

SÁVIO MATHEUS REIS DE CARVALHO

**DESCRIÇÃO DAS ALTERAÇÕES OFTALMOLÓGICAS EM CÃES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM
ALOPURINOL A LONGO PRAZO ASSOCIADOS COM DIAGNÓSTICO
PARASITOLÓGICO PELA REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE E SWAB
CONJUNTIVAL**

Teresina Piauí – Brasil

2023

SÁVIO MATHEUS REIS DE CARVALHO

**DESCRIÇÃO DAS ALTERAÇÕES OFTALMOLÓGICAS EM CÃES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM
ALOPURINOL A LONGO PRAZO ASSOCIADOS COM DIAGNÓSTICO
PARASITOLÓGICO PELA REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE E SWAB
CONJUNTIVAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Piauí, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em

Área de concentração: **Diagnóstico Avançado em Medicina Veterinária**

Linha de pesquisa: **Diagnóstico e Terapêutica em Medicina Veterinária**

Orientador: **Prof. Dra. Maria do Socorro Pires e Cruz**

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial CCA
Serviço de Representação Temática da Informação

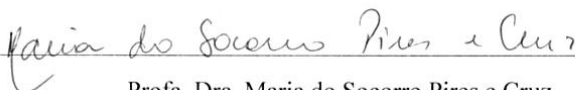
- C331a Carvalho, Sávio Matheus Reis de.
Alterações oftalmológicas em cães com leishmaniose visceral submetidos ao tratamento com alopurinol a longo prazo associados com diagnóstico parasitológico pela reação em cadeia pela polimerase e citologia conjuntival / Sávio Matheus Reis de Carvalho. -- 2023.
60 f.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas em Animais de Interesse Regional, 2023.
“Orientadora: Profa. Dra. Maria do Socorro Pires e Cruz.”
1. *Leishmania*. 2. Cão. 3. Conjuntiva. 4. qPCR. I. Cruz, Maria do Socorro Pires e. II. Título.
- CDD 636.089

Bibliotecário: Rafael Gomes de Sousa - CRB3/1163

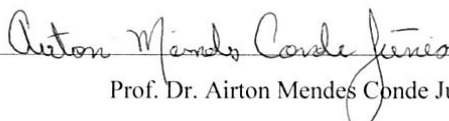
Alterações oftalmológicas em cães com leishmaniose visceral submetidos ao tratamento com alopurinol a longo prazo associados com diagnóstico parasitológico pela Reação em Cadeia pela Polimerase e citologia conjuntival

Sávio Matheus Reis de Carvalho

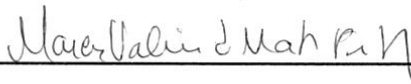
Banca examinadora:



Profa. Dra. Maria do Socorro Pires e Cruz
(Presidente / Orientadora) / DMV / CCA / UFPI



Prof. Dr. Ailton Mendes Conde Júnior
(Examinador interno) / DMO / CCS / UFPI



Prof. Dr. Marcus Valérius de Matos Freitas
(Examinador externo) / HVU / UFPI

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por conceder saúde e sabedoria, e ter me acalmado diante dos desafios, por me capacitar para trilhar novos caminhos de conhecimentos, e fortalecimento pessoal e profissional.

À minha família pelo suporte e apoio, me fazendo sentir capaz de alcançar os meus objetivos, sendo eles quais forem, e por mais difíceis de sejam.

Aos amigos, companheiros de trabalho, que a pós-graduação me presenteou, para que diariamente pudessemos, cada um no seu objetivo, se ajudar e fortalecer uns aos outros. Em especial, aos companheiros do NUDIVE e do mestrado: Fabiane, Iuliana, Indira, Rallyson, Renan, Andrezza, Kelvin, Danielle.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Flávio Ribeiro, que no seu papel de educar, fez bem mais do que poderia esperar, sempre confiante, sábio e incentivador, fazendo dos desafios mais difíceis, os mais fáceis a partir da busca pelo conhecimento, sendo assim, capaz de guiar toda uma equipe com muito zelo.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Amilton Paulo Raposo, pela oportunidade de auxiliar nesta trajetória, e compartilhando sua sabedoria. Assim como, todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional, que possibilitaram o aprendizado, contribuindo para o amadurecimento acadêmico.

Agradeço à Universidade Federal do Piauí, por ser a casa que me acompanhou desde a graduação, tornando morada para os meus sonhos. E agradeço também à Capes, por conceder subsídios financeiros como bolsista, sendo um braço de suporte nesta jornada.

Aos tutores e pacientes caninos, que se dispuseram em doar seu tempo para que pudessemos ser cada vez mais capacitados em conhecimento científico, sendo possível futuramente retribuir com maior cuidado para a saúde dos pets gestantes.

SUMÁRIO**Página**

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Exame ultrassonográfico	15
2.2 Ultrassonografia em cadelas não gestantes	16
2.3 Ultrassonografia em cadelas gestantes	17
2.4 Avaliação da circulação fetal.....	20
3. CAPÍTULO I.....	25
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
5. REFERÊNCIAS.....	49
6. ANEXOS.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

X	Veze
±	Mais ou menos
®	Marca registrada
2D	Bidimensional
ACC	Artéria carótida comum
ACM	Artéria cerebral média
ANOVA	Análise de Variância
AUP	Artéria uteroplacentária
bpm	Batimentos por minuto
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCA	Centro de Ciências Agrárias
CEEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
cm/s	Centímetro por segundo
CONCEA	Controle da Experimentação Animal
CU	Cordão umbilical
DBP	Diâmetro biparietal
DMV	Departamento de Morfofisiologia Veterinária
Dr.	Doutor
FC	Frequência cardíaca
FCF	Frequência cardíaca fetal
FRP	Frequência de repetição de pulso
IP	Índice de pulsatilidade
IR	Índice de resistividade
Kg	Quilograma
MHz	Megahertz
Modo B	Modo bidimensional
Modo M	Modo movimento
N°	Número
NUDIVE	Núcleo de Diagnóstico por Imagem Veterinário Especializado
PPGTAIR	Programa e Pós-graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional

Prof.	Professor
PW	Power Doppler
RCP	Razão cérebro placentária
UFPI	Universidade Federal do Piauí
VDF	Velocidade diastólica final
VPS	Velocidade de pico sistólico

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Imagens ultrassonográficas obtidas de estruturas maternofetais caninas durante o terço final de gestação de cadelas saudáveis. (A) Mensuração da maior seção transversal, entre os dois ossos parietais do crânio, a partir da diferenciação da cabeça e do corpo do feto canino, para obtenção do Diâmetro Biparietal (DBP) e estimativa da idade gestacional por meio da fórmula: $DBP \times 15 + 20$. (B) Doppler de onda pulsada para avaliação do padrão de fluxo em artéria uterina. (C) Doppler de onda pulsada para avaliação do padrão de fluxo em artéria cerebral média e obtenção das velocidades de pico sistólico e diastólica final, para cálculo dos índices de resistividade e pulsatilidade. (D) Doppler de onda pulsada para avaliação do padrão de fluxo em artéria umbilical e obtenção das velocidades de pico sistólico e diastólica final, para cálculo dos índices de resistividade e pulsatilidade.....34

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO I

Tabela 1. Valores dopplervelocimétricos da artéria umbilical nas fases 40-50 dias e 51-60 dias de idade gestacional.....	35
Tabela 2. Valores dopplervelocimétricos da artéria uteroplacentária nas fases 40-50 dias e 51-60 dias de idade gestacional.....	35
Tabela 3. Valores dopplervelocimétricos da artéria cerebral média nas fases 40-50 dias e 51-60 dias de idade gestacional.....	36
Tabela 4. Valores dopplervelocimétricos da artéria carótida comum nas fases 40-50 dias e 51-60 dias de idade gestacional.....	36
Tabela 5. Relação índice de pulsatilidade da artéria cerebral média e artéria umbilical ($IP_{ACM/AU} = RCP$)	37
Tabela 6. Relação $IP_{artéria\ carótida\ comum/AU}$	37

RESUMO

Avaliação dos valores hemodinâmicos presumidamente normais da artéria umbilical, artéria carótida interna e artéria cerebral média fetal no terço final gestacional em cadelas

A ultrassonografia bidimensional com Doppler possibilita a avaliação de índices vasculares do fluxo sanguíneo na avaliação gestacional, bem como permite a caracterização hemodinâmica por meio da determinação de valores de resistência vascular, como o índice de resistividade (IR) e índice de pulsatilidade (IP), obtidos pela mensuração da velocidade de pico sistólica (VPS) e da velocidade diastólica final (VDF). O estudo visa definir valores hemodinamicamente normais da artéria umbilical (cordão umbilical- CU), artéria uteroplacentária (AUP), artéria média cerebral (ACM) e artéria carótida comum (ACC) dos fetos, de cadelas no terço final de gestação, bem como correlaciona-los entre si, para predizer indiretamente a viabilidade fetal e data provável do parto. Foram avaliadas 30 cadelas no terço final da gestação (40 - 60 dias), clinicamente saudáveis. Estas foram submetidas a avaliação ultrassonográfica dopplervelocimétrica em dois períodos, o primeiro, entre 40-50 dias e o segundo, entre 51-60 dias de gestação. Em cada período foi analisado os índices de pulsatilidade e resistividade da CU, AUP, ACM e a ACC fetos. Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao Teste de Tukey, utilizando o P valor de 5%. As velocidades de pico sistólico (VPS) e a velocidade diastólica final (VDF) demonstraram aumento progressivo ao longo do tempo de estudo. Consequentemente, a relação S/D apresentou diminuição entre os períodos estudados. A análise dos índices de resistividade (IR) e pulsatilidade (IP) do CU, demonstraram diminuição entre os períodos 1 e 2. Semelhante, na AUP, os valores de VPS e VDF evidenciaram aumento entre tempos, enquanto a relação S/D diminuiu. Para a ACM e artéria carótida interna, os valores de VPS e VDF apresentaram-se crescentes até o final da gestação. A análise da relação cerebroplacentária (ACM/AU) demonstrou valores decrescentes entre os períodos P1 e P2, demonstrando diferença estatística significativa ($P < 0,05$). As velocidades de fluxo vascular da AUP, CU, ACM e ACC mostraram valores semelhantes aos previamente descritos na literatura para cadelas em curso normal de gestação. Os dados obtidos no presente estudo podem ser úteis na identificação da centralização fetal, contribuindo na caracterização da viabilidade fetal, fornecendo dados valiosos para a programação mais efetiva do parto por cesariana, aumentando a sobrevivência dos recém-nascidos.

Palavras-chave: Circulação fetal, diagnóstico por imagem, obstetrícia, reprodução, resistência vascular.

ABSTRACT

Assessment of presumably normal hemodynamic values of the umbilical artery, internal carotid artery and fetal middle cerebral artery in the final gestational third in bitches

Two-dimensional Doppler ultrasound enables the assessment of vascular blood flow indices in the gestational assessment, as well as allows for hemodynamic characterization by determining vascular resistance values, such as the resistivity index (RI) and pulsatility index (PI), obtained by measuring the peak systolic velocity (PSV) and the end-diastolic velocity (EDV). The study aims to assume hemodynamically normal values of the umbilical artery (umbilical cord-UC), uteroplacental artery, middle cerebral artery (MCA) and carotid artery of fetuses, of bitches in the final third of pregnancy, as well as correlating them with each other to predict indirectly the fetal viability and probable date of delivery. Thirty female dogs in the final third of pregnancy (40 - 60 days), clinically healthy, were evaluated. These patients were submitted to Doppler velocimetric ultrasonographic evaluation in two periods, the first, between 40-50 days and the second, between 51-60 days of gestation. In each phase, the indices of pulsatility and resistivity of the UC, uteroplacental artery, MCA and common carotid artery of the fetuses were analyzed. All data obtained were submitted to analysis of variance and the Tukey test, using a P value of 5%. Systolic velocities peak (SVP) and end-diastolic velocity (EDV) showed a progressive increase over the study period. Consequently, the S/D ratio decreased between the periods studied. The analysis of the umbilical cord resistivity (RI) and pulsatility (PI) indices showed an decrease from period 1 to period 2. Similarly, in the uteroplacental artery, the PSV and EDV values showed an increase between times, while the S/D ratio decreased. For the MCA and internal carotid artery, the PSV and VDF values increased until the end of pregnancy. The analysis of the cerebroplacental relationship (MCA/UA) showed decreasing values between periods P1 and P2, demonstrating a statistically significant difference ($P < 0.05$). The vascular flow velocities of the uteroplacental artery, UC, MCA and internal carotid artery showed values similar to those previously described in the literature for female dogs in the normal course of pregnancy. The data obtained in this study can be useful in identifying fetal centralization, contributing to the characterization of fetal viability, providing valuable data for a more effective scheduling of cesarean delivery, increasing the survival of newborns.

Keywords: Fetal circulation, imaging diagnosis, obstetrics, reproduction, vascular resistance

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença infecto-parasitária e zoonótica causada por protozoários pertencentes ao gênero *Leishmania* e transmitida pela picada de uma fêmea de flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* (MAURÍCIO, 2018; MAIA e CAMPINO, 2018). A doença é endêmica em aproximadamente 50 países e afeta milhões de cães na Ásia, nas Américas e no Bacia do Mediterrâneo (OMS, 2010; CAMPINO e MAIA, 2018).

Os cães doentes podem apresentar uma grande variedade de manifestações clínicas, sendo os sintomas mais comuns apatia, hiporexia, linfadenomegalia, esplenomegalia, onicogribose, dermatopatias e oftalmopatias (BLAVIER et al., 2001; DANTAS-TORRES, 2006). Atualmente uma grande variedade de métodos de diagnóstico para a LVC está disponível, incluindo testes sorológicos, moleculares, parasitológicos e imuno-histoquímica (FARIA e ANDRADE, 2012). A associação entre os parâmetros clínicos, epidemiológicos e dos exames específicos faz-se necessária para o diagnóstico definitivo (FREITAS et al., 2012).

O tratamento da LVC depende do estágio em que a doença se encontra e envolve uma combinação de fármacos leishmanióstáticos e leishmanicidas. A prevenção inclui o uso de inseticidas tópicos de longa duração para cães que vivam ou viajem para áreas endêmicas. Além disso, a vacinação deve ser considerada como uma abordagem multimodal (LEISHVET, 2018).

As oftalmopatias são sinais clínicos comumente encontrados em animais acometidos por LVC, podendo ocorrer conjuntamente com outros sinais sistêmicos ou de forma individual (PEÑA et al., 2000; SAUQUILLO, 2005). As principais alterações oftálmicas encontradas são alopecia periocular, blefarite, conjuntivite, uveíte e edema de córnea (PEÑA et al., 2000; SAUQUILLO, 2005).

A técnica da reação em cadeia pela polimerase (PCR) é considerada como padrão ouro no que diz respeito ao diagnóstico de LVC, por apresentar alta sensibilidade e especificidade, sendo capaz de detectar a infecção antes do soro conversão e em cães assintomáticos. Devido a resistência por parte dos tutores, técnicas menos invasivas vem ganhando espaço, como a citologia conjuntival e o PCR a partir de swab conjuntival (PEÑA et al., 2000; FERREIRA et al., 2008).

O objetivo do presente trabalho é descrever sobre as principais oftalmopatias em cães acometidos por leishmaniose viscerais caninos tratados em longo prazo com alopurinol.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A LVC é uma zoonose de distribuição cosmopolita provocada por um protozoário do gênero *Leishmania* e transmitida por meio da picada do mosquito pertencente à família dos flebotomídeos, espécie *Lutzomyia longipalpis*. Este vetor é conhecido popularmente, por mosquito-palha. Esta espécie de vetor, é um inseto pequeno que se alimenta de uma grande variedade de hospedeiros vertebrados e que se reproduz em locais com muita matéria orgânica em decomposição (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; COSTA, 2011; MENDES et al., 2002; ASHFORD, 1996)

Os cães desempenham um papel importante na epidemiologia da leishmaniose, sendo considerados os principais reservatórios para a doença humana especialmente na presença de vetores competentes e hospedeiros susceptíveis ([STEINDEL et al., 2013](#)) Detectar os cães infectados de forma precoce é fundamental para impedir a expansão da doença (MAIA e CAMPINO, 2018).

No Brasil, a região nordeste tem mostrado uma ampla transmissão de LVC, sendo a principal região endêmica do país (REIS et al., 2017). A ocorrência da doença está intimamente relacionada a modificações ambientais e à precárias condições de vida ([CESSE et al. 2001](#); [DANTAS-TORRES e BRANDÃO-FILHO, 2006](#)). A ocupação desordenada do espaço urbano, saneamento básico irregular ou ausente, falta de coleta de lixo, presença de outros animais na área peridoméstica como galinhas e porcos levam ao aumento da densidade de flebotomíneos (MORENO et al., 2005; FRANCA-SILVA et al., 2005; MOREIRA et al., 2003). Além destes fatores, questões socioeconômicas da população também contribuem para elevar esse número (WHO, 2002).

As manifestações clínicas da LVC são diversas e incluem sinais gerais como apatia, hiporexia, perda de peso e linfadenomegalia; sinais dermatológicos como descamação e despigmentação,

prurido, perda de pelo, hiperqueratose e onicogribose; sinais oftálmicos como conjuntivite, blefarite e uveíte; artropatias, nefropatias, além de sintomas digestivos (GONTIJO e MELO, 2004; CIARAMELLA et al., 1997)

O diagnóstico da LVC envolve a realização de exames parasitológicos, sorológicos, moleculares e imuno-histoquímica. Os exames parasitológicos buscam formas amastigotas do parasito em biópsia de pele; aspirados de linfonodos, medula óssea e baço; e biópsia hepática. Os aspirados de medula e linfonodos são os mais usados pelos clínicos veterinários, além da cultura em meio Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; SILVA, 2007). Diversos métodos sorológicos são utilizados para o diagnóstico da LVC, recebendo destaque a Reação de Imunofluorescência indireta (RIFI) e o Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), recomendados pelo Ministério da Saúde para o diagnóstico da LVC (FARIA e ANDRADE, 2012). O diagnóstico molecular por meio da Reação em cadeia da polimerase (PCR) permite a amplificação e detecção do material genético específico do parasita, permitindo a sua identificação em diferentes amostras analisadas (FARIA e ANDRADE, 2012).

O tratamento da LVC é permitido no Brasil desde 2017 com o uso de um medicamento específico aprovado para este fim, o Milteforan (Virbac), à base de Miltefosina. De acordo com o boletim técnico da Virbac (2017), a miltefosina é um fosfolípido com uma estrutura similar ao composto metabolizado pelo parasita *Leishmania*. Ele atua inibindo a síntese da membrana celular do parasito e interrompe as vias de sinalização que estão presentes nessa membrana.

A miltefosina tornou-se uma valiosa droga no tratamento de LVC, em virtude do diferente modo de ação, com base em uma atividade antiparasitária direta e não dependendo de sistema imunológico funcional, além disso possui fácil administração e baixa toxicidade (MIRÓ et al., 2009), sendo sua eficácia clínica e laboratorial relatada nos estudos de Woerly et al. (2009); Miró et al., (2009); Andrade et al. (2011). O uso combinado da Miltefosina com alopurinol e

domperidona tem eficácia no controle dos sinais clínicos e redução de carga parasitária em cães com LVC (ARAÚJO et al., 2018). Sousa et al. (2020) relata que o tratamento realizado com miltefosina em um cão com LVC demonstrou-se eficaz, promovendo a cura clínica e ausência de formas circulantes de *Leishmania* no PCR até 8 meses após o tratamento.

A presença de alterações oftálmicas em cães com LVC é bastante comum (BARBOSA et al., 2012) e pode ser o único sinal clínico observado em alguns cães (PEÑA et al., 2000). A fisiopatogenia de alterações oftálmicas que ocorrem na leishmaniose ainda não é completamente estabelecida (WILLIAMS, 2008). Acredita-se que a formação de imunocomplexos, responsável por lesões vasculares periféricas (pontas de orelhas, cotovelos, coxins plantares), pode ser o mecanismo fisiopatológico pelo qual lesões oftálmicas também ocorrem (BRITO et al., 2010).

Não é incomum a presença de formas amastigotas em estruturas oculares de animais doentes, estas, são observadas normalmente por meio de exame histopatológico post mortem (BRITO et al., 2010). A presença local do parasito justifica o padrão inflamatório, comumente linfoplasmocítico, observado na maioria dos casos, sendo a conjuntiva a estrutura ocular em que se observa maior parasitismo, provavelmente pela atividade linfoide que o tecido possui (BRITO et al., 2010).

As uveíte, ceratites, conjuntivites, blefarites, edema de córnea, vascularização corneal e alopecia periocular são as oftalmopatias mais frequentes na LVC (PEÑA et al., 2000; SAUQUILLO, 2005). Outras oftalmopatias mais incomuns na leishmaniose são coriorretinites, descolamento de retina, catarata, glaucoma e celulite orbital (PEÑA et al., 2008; Di PIETRO et al., 2016).

A uveíte é uma das afecções oculares mais frequente nos cães, e na maior parte dos casos está associada a uma doença sistêmica, incluindo a LVC. Brito et al. (2006) e Peña et al. (2000) relataram a uveíte anterior como o sinal ocular mais comum em cães avaliados com LVC. De ocorrência aguda, leva a em hiperemia conjuntival, edema de córnea e íris, fibrina intracameral,

hifema, miose, formação de nódulos discretos e multifocais no estroma da íris (BETTIO, 2017) e, mais raramente, glaucoma (BRITO et al., 2006). O tratamento da uveíte consiste no controle da dor e da inflamação com o uso de antiinflamatórios esteroides e não esteroides na forma oftálmica/tópica e oral. Midriáticos e cicloplégicos também podem ser utilizados dependendo do caso (AZEVEDO, 2017).

A conjuntivite é um sinal clínico observado com frequência em cães com LVC. Na leishmaniose a conjuntivite pode ocorrer de forma primária ou secundária, podendo afetar as pálpebras e o aparelho lacrimal, repercutindo em alterações de superfície ocular (PEÑA et al., 2008). Podem ser observados ainda hiperemia conjuntival, secreção ocular, quemose e espessamento de conjuntiva (MORIBAYASHI, 2019). As ceratites normalmente estão associadas à conjuntivite e a uveíte (BETTIO, 2017; VILLAGRASA et al., 2002). O tratamento baseia-se em uso de anti-inflamatório tópico.

A blefarite, inflamação das pálpebras, é uma oftalmopatia frequentemente observada em cães com LVC, levando a sinais clínicos de alopecia periocular, edema, prurido, secreção ocular, hiperpigmentação, pápulas e pústulas, desconforto e hiperemia (MORIBAYASHI, 2019). As alterações palpebrais são consequências da ação direta do parasito, e em associação à vasculite necrosante, que forma na pele desde pequenos nódulos até ulcerações graves (PUMAROLA, 1991). O tratamento envolve o uso de pomadas a base de antibiótico e antiinflamatório, além do tratamento sistêmico para a LVC. A blefarite difusa constituiu a desordem palpebral mais freqüente nos estudos de Peña et al. (2000) e Fulgêncio et al. (2006) em cães com LVC.

O edema de córnea é impulsionado pelo dano as células endoteliais induzido por prostaglandinas, radicais livres de oxigênio e enzimas hidrolíticas liberadas por leucócitos durante episódios ativos de inflamação. Esses mediadores interferem na função da bomba endotelial e interrompem o estado desidratado normal da córnea (DOWER et al., 2020). Leva ao

sinal clínico de opacidade corneal que muitas vezes é a principal queixa do tutor no momento do atendimento. O tratamento envolve o uso de antiinflamatórios, principalmente os corticosteroides (HENDRIX, 2013; GILGER e HOLLINGSWORTH, 2011).

A ceratoconjuntivite seca (CCS), também conhecida como síndrome do olho seco, é uma doença oftálmica comum em cães, em que é observada a deficiência do filme lacrimal pré-corneal. Pode ser classificada quanto a quantidade de lagrima produzida (CCS quantitativa) e quanto a qualidade lacrimal (CCS qualitativa). (MOTTA et al., 2014). Cães com LVC também desenvolvem essa oftalmopatia (CHERRY et al., 2017) e apresentam como sinais clínicos hiperemia conjuntival, secreção seromucosa fortemente aderida à córnea e às pálpebras, dermatite periocular, blefaroespasmos, ressecamento ocular, edema e neovascularização corneal (JORGE et al., 2015). O tratamento medicamentoso da CCS inclui lacrimogênicos, lacrimomiméticos, mucolíticos, imunossupresores e antibacterianos tópicos (ASTRAUSKAS e CAMARGO, 2013).

Diversos trabalhos já relataram a incidência de alterações oftálmicas em cães com LVC. Fulgêncio (2006), constatou oftalmopatias em 48 de 96 olhos de cães positivos para LVC, sendo as mais prevalentes a blefarite (23,9%), uveíte anterior (20,8%), conjuntivite (19,8%), e CCS (18,7%). Ceratoconjuntivite nodular já foi relatada em um cão com LVC (EGUCHI, 2017).

Fulgêncio et al. (2004) avaliando 10 cães com LVC apresentando alterações oftálmicas observou que as lesões apresentaram-se de forma bilateral em seis animais (60%) e em dois cães (três olhos) existiam mais de um sinal ocular. Conjuntivite ocorreu em cinco olhos (25%), uveíte anterior em quatro (20%), blefarite e alopecia periocular em três (15%) e ceratoconjuntivite e CCS em dois (10%). Esses pacientes não apresentavam sinais sistêmicos da doença, sendo a oftalmopatia a única queixa do proprietário.

Koutinas et al. (1999) encontraram uma prevalência de 24,1% em um estudo clínico envolvendo 158 cães na Grécia, sendo as conjuntivites (12%), blefarites (8,2%), uveítes (3,9%) as mais prevalentes. Pietro et al. (2016) avaliou a prevalência de lesões oculares em cães infectados por *Leishmania infantum*, e verificou maior ocorrência de uveíte anterior, blefarites e alopecia periocular.

3. METODOLOGIA

Foram selecionados 22 cães, independente de idade, raça e sexo, oriundos da Associação Piauiense de Proteção e Amor aos Animais (APIPA). Os animais participantes foram divididos em dois grupos, sendo estes grupos compostos de animais que fazem uso de alopurinol e os que não fazem uso de alopurinol.

A parte laboratorial da pesquisa foi desenvolvida no Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisa com Células Tronco – NUPCELT/UFPI, da Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portela, Teresina – PI.

3.1 COLETA DE AMOSTRAS

Para a coleta de material, os cães foram contidos manualmente, fazendo o uso da focinheira, na obtenção de material ocular foram coletados amostras para realização da reação em cadeia pela polimerase(PCR) com auxílio de *swab* estéril, sendo utilizado um para cada olho, sendo armazenados em meio de transporte (RPMI), os quais foram encaminhados para laboratório logo após a coleta. Para o exame parasitológico da conjuntiva, foi realizada uma leve tração manual da face palpebral da conjuntiva da terceira pálpebra e parte interna das pálpebras. Com isso, foi realizada uma suave escarificação da porção exposta, bem como da região do fórnice conjuntival em toda sua circunferência no olho direito e esquerdo, empregando-se *swab* estéril descartável. O material obtido foi depositado em movimentos de rolagem sobre uma lâmina de microscopia para exame parasitológico. Todo o material coletado foi encaminhado ao Laboratório de Imunologia Veterinária no NupCelt para posterior análise.

3.2 EXAME OFTÁLMICO

Todos os animais participantes passaram por exame oftálmico completo incluindo olho e anexos. A avaliação das pálpebras, conjuntiva palpebral e bulbar, terceira pálpebra, córnea, esclera, câmara anterior, íris e pupila foram realizadas com a ajuda de uma luz de halogênio e uma lupa de magnificação aumento 3,5 ×. Sempre que possível, o cristalino lente, humor vítreo, retina e nervo óptico foram avaliados por oftalmoscopia direta. Um colírio midriático (Mydriacyl, Brasil) foi usado para a fundoscopia. A produção lacrimal avaliado por meio teste lacrimal de schirmer (Ophthalmos, Brasil), sendo avaliada pressão intraocular (PIO) por meio de um tonômetro de rebote; reflexo pupilar direto, consensual e ameaça; teste de fluoresceína e teste de Jones, com auxílio de corante de fluoresceínas em tiras secas (Ophthalmos, Brasil) dissolvido

em 1mL de soro fisiológico. Os dados foram registrados na ficha de atendimento oftálmico (ANEXO I).

3.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

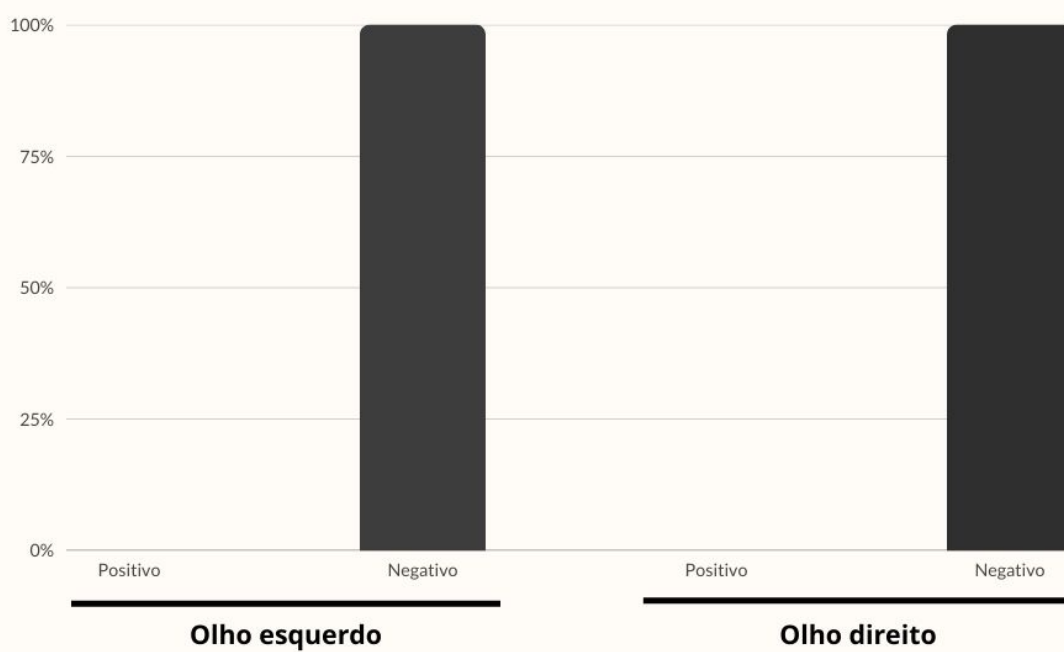
As amostras coletadas foram encaminhadas para o laboratório de imunologia veterinária, as lamínas de citologia conjuntival foram coradas pela técnica do panótico rápido, a leitura das lâminas foram realizadas sobre microscopia de luz, na objetiva de 100x.

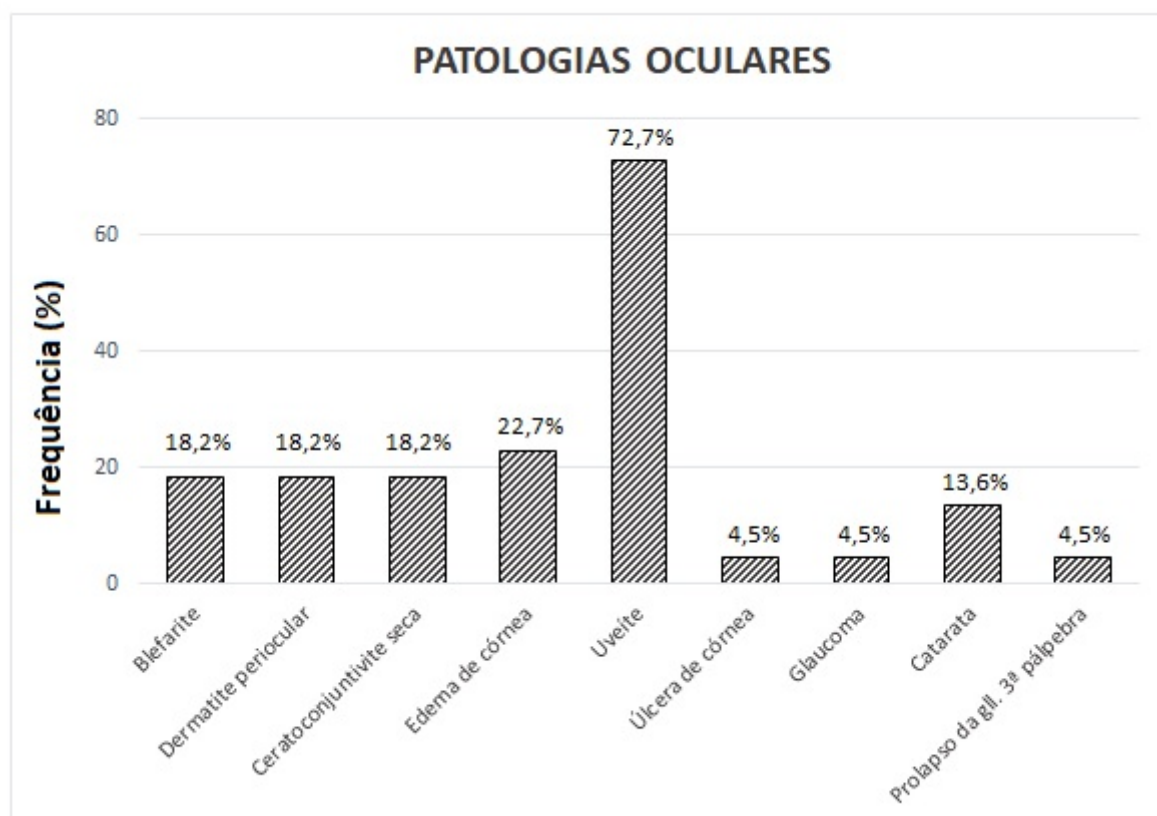
O DNA foi extraído usando o PureLink Genomic DNA Minikit (Invitrogen™ Cat No. 1820-02), seguindo as recomendações do fabricante para cada tipo de amostra em particular. A quantidade de DNA foi determinada utilizando espectrofotômetro Nanodrop™ 2000/2000c (Thermo Scientific). Após a extração, armazenar o DNA identificado com as etiquetas específicas a -20°C em caixa identificada como “DNA extraído para PCR”.

Antes de iniciar a reação foi realizado a limpeza da cabine de PCR, as micropipetas e as caixas de ponteiros com álcool 70%, colocar na cabine os tubos Eppendorf de 2,0 mL para preparação do mix, colocar o suporte de placa de qPCR, uma placa de qPCR e um adesivo, deixar em luz UV de 20 a 30 minutos.

RESULTADO E DISCUSSÃO

CITOLOGIA CONJUNTIVAL





1 **Avaliação dos valores hemodinâmicos presumidamente normais da artéria umbilical,**
2 **artéria carótida interna e artéria cerebral média fetal no terço final gestacional em**
3 **cadelas**

4 Andressa Kelly Barbosa Rufino¹; Flávio Ribeiro Alves²; Amilton Paulo Raposo Costa²

5
6 ¹Pograma de Pós-graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional-
7 PPGTAIR, Universidade Federal do Piauí-UFPI, Teresina, Piauí, Brasil. ²Departamento de
8 Morfofisiologia Veterinária-DMV, Universidade Federal do Piauí-UFPI, Teresina, Piauí,
9 Brasil. CORRESPONDENCE: A. K. B. Rufino [andressa_kbr@hotmail.com – Phone: +55
10 (86) 99810-9116].

11
12 **RESUMO**

13 **Background:** A ultrassonografia bidimensional com Doppler possibilita avaliar os índices
14 vasculares do fluxo sanguíneo e morfologia na avaliação gestacional, sendo assim uma
15 ferramenta importante capaz de detectar resistências vasculares que podem afetar a circulação
16 fetal e materna, como casos de insuficiência placentária, associada ao déficit da oxigenação
17 cerebral fetal e sofrimento fetal. O estudo visa presumir valores hemodinamicamente normais
18 no terço final gestacional de cadelas da artéria umbilical, artéria uteroplacentária, artéria
19 média cerebral e artéria carótida, correlacionando entre si os índices, para que possa avaliar a
20 circulação feto-placentária, e prever indiretamente como está a circulação cerebral fetal, e a
21 viabilidade fetal e data provável do parto.

22 **Material, Métodos & Resultados:** No estudo foram avaliadas 30 cadelas, advindas da rotina
23 do Hospital Veterinário Universitário (HVU-UFPI), onde se encontravam no terço final da
24 gestação, entre 40 e 60 dias de idade gestacional, com idade entre 1 a 7 anos de idade,
25 primíparas ou plúripas, sem determinação de raça específica, com peso entre 5 a 35kg.

26 Todas as cadelas se encontravam clinicamente saudáveis, de acordo com o exame físico
27 previamente realizados, e de acordo com a avaliação hematológica solicitada pelo clínico
28 responsável. As cadelas foram avaliadas em duas fases do terço final gestacional, entre 40-50
29 dias, e 51-60 dias de idade gestacional. Em cada fase foi obtido através da ultrassonografia
30 bidimensional com Doppler as ondas VPS e VDF, e os índices de pulsatilidade e resistência,
31 da artéria umbilical, artéria uteroplacentária, artéria cerebral média e a artéria carótida interna
32 dos fetos. Em média, pelos menos 3 fetos em cada cadela gestante foram avaliados e realizado
33 as mensurações. Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de
34 Tukey, utilizando o P valor de 5%. Foi observado diferença significativa entre os valores de
35 velocidades e os índices entre as duas fases do terço final gestacional em todos os vasos
36 sanguíneos estudados. Observou-se aumento dos valores de VPS e VDF e uma diminuição
37 dos índices, à medida que se aproximava da data provável de parto.

38 **Discussão:** Os valores hemodinâmicos obtidos para a artéria umbilical e artéria uterina
39 mostraram-se significativamente diferentes entre 40 e 50 dias de gestação (P1) e 50 e 60 dias
40 de gestação (P2), com diminuição da resistência vascular e aumento das velocidades, podendo
41 estar relacionadas à maior associação da perfusão sanguínea materno-fetal, devido ao
42 aumento da demanda para o desenvolvimento do feto. A Artéria Cerebral Média (ACM)
43 também apresentou mudanças entre P1 e P2, com aumento do SVP e EDV no terço final da
44 gestação, e a relação S/D mostrou-se diminuída, diferindo significativamente entre P1 e P2. As
45 velocidades de fluxo sistólico (SVP) e diastólico (EDV) da artéria carótida interna
46 aumentaram progressivamente, ao tempo em que o IR, IP e a relação S/D diminuíram, entre
47 os períodos avaliados (P1 e P2), fornecendo maior de fluxo cerebral em fetos caninos,
48 mantendo a frequência cardíaca normal, indicando viabilidade fetal positiva.

49 **Palavras-chave:** Ultrassonografia gestacional, cadelas, Doppler, hemodinâmica

50

51

INTRODUÇÃO

52

53 A ultrassonografia bidimensional com Doppler em gestantes é capaz de auxiliar no
54 diagnóstico gestacional e acompanhar o período de gestação, avaliando o desenvolvimento do
55 feto e a circulação materno-fetal [22]. O crescimento fetal depende do desenvolvimento
56 vascular no compartimento materno e fetal, para que o feto possa obter um suprimento
57 nutricional adequado, sendo importante a avaliação da vascularização materno-fetal através
58 do estudo de vasos como, a artéria uteroplacentária e cordão umbilical [42,43].

59 O estudo da vascularização cerebral do feto permite avaliar a perfusão sanguínea
60 cerebral, correlacionando com o desenvolvimento do sistema nervoso e do bem-estar fetal. O
61 estudo da artéria cerebral média e artéria carótida interna do feto possibilita avaliar os fluxos
62 sanguíneos cerebrais, sendo capaz de prever casos de insuficiência de oxigenação cerebral, e
63 sinais de sofrimento fetal mais precoce [34,37,45].

64 O objetivo deste trabalho é observar, durante o terço final da gestação em cadelas, o
65 fluxo sanguíneo da artéria umbilical, e artéria uteroplacentária, para avaliar o fluxo sanguíneo
66 materno-fetal, bem como avaliar o fluxo da artéria carótida interna e da artéria cerebral
67 média, para que se possa determinar valores hemodinamicamente normais, levando em
68 consideração a correlação entre os fluxos dos vasos estudados e a frequência cardíaca fetal,
69 para prever indiretamente a irrigação cerebral fetal, a viabilidade fetal e data provável do
70 parto [37,43].

71

72

METODOLOGIA

Aspectos éticos e legais

74 A pesquisa foi desenvolvida no Núcleo de Diagnóstico Por Imagem Veterinário
75 Especializado – NUDIVE/UFPI, da Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio
76 Portela, Teresina – PI, seguindo os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do

77 Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com normas editadas pelo Conselho Nacional de
78 Controle da Experimentação Animal (CONCEA). Os protocolos utilizados neste trabalho
79 foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal – CEEA/UFPI, sob o N°:
80 657/2020).

81 *Animais*

82 Foi realizado um estudo observacional, prospectivo, onde foram examinadas 30
83 (trinta) cadelas saudáveis, de raças diversas, com idade de 1 a 7 anos e pesos variando entre 5
84 a 35kg, avaliadas durante o último terço de gestação (40 a 60 dias). As cadelas foram
85 submetidas a exame físico e exames laboratoriais, sem evidência de alterações hematológicas
86 e bioquímicas, sem histórico de afecções concomitantes (endócrinas, infecciosas ou
87 reprodutivas).

88 A idade gestacional foi estimada pela mensuração do diâmetro biparietal (DBP), o
89 qual foi mensurado na maior seção transversal a partir da diferenciação da cabeça e do corpo.
90 Após a obtenção da medida do DBP, foi utilizada a fórmula $DBP \times 15 + 20$ para estimar a
91 idade gestacional, calculada automaticamente pelo software do aparelho (Figura 1-A) [34].

92 Em média, três fetos foram examinados em cada cadela no terço final da gestação. Os
93 fetos foram avaliados em dois períodos: (P1): 40-50 dias e (P2): 51-60 dias de gestação, para
94 cadelas com gestação em curso normal e sem sinais de estresse fetal. Foram selecionadas
95 cadelas cuja gestação alcançou 60 dias e que evidenciaram sinais de trabalho de parto, tendo
96 sido posteriormente submetidas a cirurgia cesariana eletiva, por opção do tutor. Os fetos
97 foram avaliados, um a um, e a frequência cardíaca fetal (FCF) foi mensurada cinco vezes, por
98 pelo menos três minutos, para a exclusão da possibilidade de estresse fetal [28]. A média de
99 todos os batimentos cardíacos registrados durante o exame de cada feto foi definida como a
100 FCF.

101 A FCF foi obtida para cada ciclo durante a aquisição automática pelo software na
102 máquina, medindo-se a distância dos espectros de fluxo nos vasos analisados. A média de
103 todos os batimentos cardíacos registrados em três ciclos consecutivos durante o exame de
104 cada feto definiu a FCF. O tamanho do setor 2D foi minimizado para melhorar a qualidade da
105 imagem. A maior frequência de repetição de pulso (FRP) foi utilizada para evitar sinais de
106 *aliasing* nos fluxos normais.

107 *Crítérios de exclusão*

108 Os critérios de exclusão foram aplicados às cadelas e aos fetos. As cadelas foram
109 submetidas a exame clínico geral para avaliação do seu estado de higidez. Foram excluídas do
110 trabalho cadelas que apresentaram sinais de alterações sistêmicas resultantes de doenças
111 parasitárias, infecciosas (febre, vômito, diarreia, inapetência), com alterações séricas
112 observadas no hemograma e exames bioquímicos, doenças cardiovasculares adquiridas ou
113 congênitas, com potencial para influenciar o desenvolvimento fetal, assim como alterar os
114 valores hemodinâmicos fisiológicos maternos (insuficiências valvares e distúrbios de ritmo
115 cardíaco ou de condução cardíaca materna) de ritmo identificados na auscultação e ao exame
116 eletrocardiográfico, respectivamente.

117 Para os fetos, foram incluídos no experimento somente aqueles que permitiram a
118 avaliação de todos os parâmetros elencados para o estudo, onde se pudesse assumir a
119 aquisição de dados que permitissem mensurações clínicas confiáveis. Foram excluídos fetos
120 que apresentaram algum tipo de anormalidade estrutural (cardíaca ou não cardíaca), elétrica,
121 malformações congênitas ou exibindo sinais de sofrimento fetal identificadas ao exame
122 ultrassonográfico.

123 *Exame ultrassonográfico*

124 Todas as fêmeas foram submetidas a exame ultrassonográfico abdominal durante o
125 último terço da gestação para análise dos seus índices dopplervelocimétricos. As cadelas

126 foram posicionadas em decúbito dorsal, sobre uma calha de esponja adaptada, com a
127 superfície abdominal tricotomizada para o escaneamento após aplicação de gel condutor para
128 ultrassonografia. Foi utilizado o equipamento de ultrassonografia¹ (M6®, *Mindray*), acoplado
129 a um transdutor linear multifrequencial de 12 MHz. A aquisição das imagens e vídeos dos
130 exames foram realizadas pelo mesmo ultrassonografista, com experiência, durante todo o
131 estudo. A qualidade da imagem foi maximizada ajustando-se o ganho, o foco e a
132 profundidade para cada feto durante o exame. O tamanho do setor 2D foi minimizado para
133 melhorar a qualidade da imagem.

134 Foram avaliados pelo menos três fetos em cada cadela e cada mensuração foi realizada
135 em triplicata, ao longo do ciclo cardíaco, configurando uma média hemodinâmica para cada
136 valor avaliado. Avaliou-se o padrão de fluxo da artéria umbilical (AU), artéria
137 uteroplacentária (AUP), artéria cerebral média (ACM) (Figura 1-D) e artéria carótida comum
138 (ACC) (Figura 1-C).

139 O vaso analisado foi inicialmente visualizado em modo B, seguindo-se com a
140 avaliação por Doppler colorido e espectral. Para os exames espectrais, a configuração das
141 faixas de velocidade e o tamanho da janela espectral (*gate*) foram ajustados durante cada
142 exame, para se obter uma sequência de gráficos Doppler espectral com ciclos cardíacos
143 sistólicos e diastólicos simétricos e distintos, sem *aliasing*. As configurações de ganho, filtros
144 e frequência de repetição de pulso (FRP) foram uniformes em todos os exames.

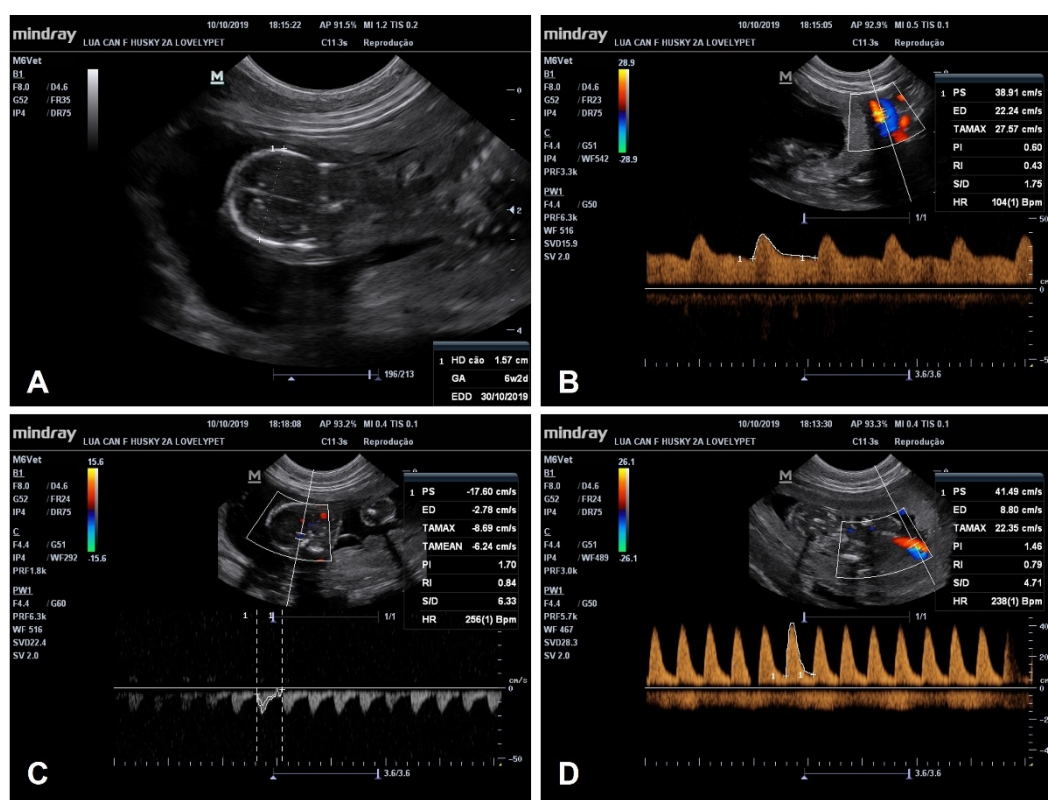
145 O espectro Doppler obtido foi posteriormente analisado, utilizaram-se três pulsos do
146 ciclo cardíaco, sendo escolhido o central como representativo real da velocidade do fluxo
147 sanguíneo [56]. As variáveis observadas foram: velocidade de pico sistólico (VPS),
148 velocidade diastólica final (VDF) e os índices de resistividade (IR) e de Pulsatilidade (IP),
149 bem como a relação sístole / diástole (S/D), calculados automaticamente por meio das

150 seguintes fórmulas: $IR = (VPS - VDF) / VPS$ e $IP = (VPS - VDF) / M$, em que M representa a
 151 média entre VPS e VDF (Figura 1) [27].

152 *Análise estatística*

153 Após a realização dos exames ultrassonográficos gestacionais, os dados foram
 154 tabulados e em seguida, foram analisados pela ANOVA e pelo Software R (Versão R
 155 i3863.5.3) e submetido pelo modelo linear generalizado. Os dados foram analisados também
 156 por um teste de médias (teste de Tukey) para avaliação da presença de diferença significativa
 157 entre as os dois tempos de avaliação, ao longo do terço final de gestação, nos valores de
 158 velocidade (VPS e VDF) e índices (IR e IP), de cada estrutura analisada, utilizando valor de *P*
 159 igual a 5%.

160



161

162 **Figura 1.** Imagens ultrassonográficas obtidas de estruturas materno-fetais caninas durante o
 163 terço final de gestação de cadelas saudáveis. (A) Mensuração da maior seção transversal,
 164 entre os dois ossos parietais do crânio, a partir da diferenciação da cabeça e do corpo do feto
 165 canino, para obtenção do Diâmetro Biparietal (DBP) e estimativa da idade gestacional por
 166 meio da fórmula: $DBP \times 15 + 20$. (B) Doppler de onda pulsada para avaliação do padrão de
 167 fluxo em artéria uterina. (C) Doppler de onda pulsada para avaliação do padrão de fluxo em

168 artéria cerebral média e obtenção das velocidades de pico sistólico e diastólica final, para
 169 cálculo dos índices de resistividade e pulsatilidade. (D) Doppler de onda pulsada para
 170 avaliação do padrão de fluxo em artéria umbilical e obtenção das velocidades de pico sistólico
 171 e diastólica final, para cálculo dos índices de resistividade e pulsatilidade
 172

173 RESULTADOS

174 As tabelas 1, 2 e 3 evidenciam os valores dopplervelocimétricos mensurados para as
 175 seguintes estruturas materno-fetais: cordão umbilical (CU), artéria cerebral média (ACM) e
 176 artéria carótida comum (ACC), respectivamente, nos dois períodos estudados: P1 (40-50 dias)
 177 e P2 (51-60 dias), com todas as cadelas aptas para seguir até os 60 dias de gestação,
 178 monitoradas pela variabilidade da frequência cardíaca (FC), sempre acima de 180 bpm.

179 As velocidades de pico sistólico (VPS) e a velocidade diastólica final (VDF)
 180 demonstraram aumento progressivo ao longo do tempo de estudo. Conseqüentemente, a
 181 relação S/D apresentou diminuição entre os períodos estudados. A análise dos índices de
 182 resistividade (IR) e pulsatilidade (IP) do cordão umbilical, demonstrou aumento do IR de P1
 183 até P2 ($P < 0,05$), enquanto que houve diminuição do IP entre P1 e P2. Para todas as variáveis
 184 estudadas houve diferença estatística significativa ($P < 0,05$), conforme demonstrado na Tabela
 185 1.

186
 187 **Tabela 1.** Valores dopplervelocimétricos da artéria umbilical nas fases 40-50 dias e 51-60
 188 dias de idade gestacional.

Parâmetros	Artéria Umbilical	
	Tempo de Gestação	
	40-50 dias	51-60
VPS (cm/s)	31,67 ± 12,28 ^a	45,28 ± 3,70 ^b
VDF (cm/s)	6,60 ± 1,51 ^a	14,13 ± 1,20 ^b
IP	1,39 ± 0,2 ^a	1,22 ± 0,24 ^b
IR	0,79 ± 0,09 ^a	0,68 ± 0,07 ^b
S/D	4,79 ± 0,25 ^a	3,20 ± 0,11 ^b

190 *Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tempos ($P < 0,05$)
 191 VPS - Velocidade de Pico Sistólico; VDF - Velocidade Diastólica Final; IP - Índice de
 192 Pulsatilidade; IR- Índice de Resistividade.

193

194 A artéria uteroplacentária, semelhantemente a artéria umbilical, os valores de SVP e
 195 EDV evidenciaram aumento entre P1 e P2, enquanto a relação S/D diminuiu até 60 dias de
 196 gestação (P2). O IR e IP decresceram durante o intervalo de estudo das cadelas prenhes. As
 197 variáveis estudadas apresentaram diferença estatística significativa, quando analisadas
 198 comparativamente entre P1 e P2 ($P < 0.05$) (Tabela 2).

199 **Tabela 2.** Valores dopplervelocimétricos da artéria uteroplacentária nas fases 40-50 dias e
 200 51-60 dias de idade gestacional.

Artéria Uteroplacentária		
Parâmetros	Tempo de Gestação	
	40-50 dias	51-60
VPS (cm/s)	40,82 ± 7,91 ^a	46,32 ± 9,87 ^b
VDF (cm/s)	17,96 ± 3,51 ^a	24,06 ± 4,51 ^b
IP	0,65 ± 0,017 ^a	0,61 ± 0,014 ^b
IR	0,56 ± 0,04 ^a	0,48 ± 0,03 ^b
S/D	2,27 ± 0,06 ^a	1,92 ± 0,08 ^b

202 *Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tempos ($P < 0,05$)
 203 VPS - Velocidade de Pico Sistólico; VDF - Velocidade Diastólica Final; IP - Índice de
 204 Pulsatilidade; IR- Índice de Resistividade.

205
 206 Para a artéria cerebral média e artéria carótida interna, os valores de VPS e VDF
 207 apresentaram-se crescentes até o final da gestação. De igual modo aos valores
 208 dopplervelocimétricos anteriormente descritos, a relação S/D diminuiu até o fim da gestação
 209 (P2). A análise comparativa entre os períodos P1 e P2 evidenciou diferença estatística
 210 significativa para todas as variáveis mensuradas ($P < 0,05$).

211
 212 **Tabela 3.** Valores dopplervelocimétricos da artéria cerebral média nas fases 40-50 dias e
 213 51-60 dias de idade gestacional.

Artéria Cerebral Média		
Parâmetros	Tempo de Gestação	
	40-50 dias	51-60
VPS (cm/s)	15,51 ± 1,42 ^a	17,77 ± 1,37 ^b
VDF (cm/s)	4,95 ± 0,36 ^a	6,44 ± 0,25 ^b
IP	1,28 ± 0,08 ^a	1,06 ± 0,17 ^b
IR	0,68 ± 0,07 ^a	0,63 ± 0,05 ^b
S/D	3,13 ± 0,16 ^a	2,75 ± 0,14 ^b

215 *Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tempos ($P < 0,05$)
 216 VPS - Velocidade de Pico Sistólico; VDF - Velocidade Diastólica Final; IP - Índice de
 217 Pulsatilidade; IR- Índice de Resistividade.

218
 219 **Tabela 4.** Valores dopplervelocimétricos da artéria carótida comum nas fases 40-50 dias e
 220 51-60 dias de idade gestacional.
 221

Parâmetros	Artéria Carótida Interna	
	Tempo de Gestação	
	40-50 dias	51-60
VPS (cm/s)	16,42 ± 0,53 ^a	22,21 ± 0,67 ^b
VDF (cm/s)	3,31 ± 0,02 ^a	5,15 ± 0,04 ^b
IP	1,27 ± 0,37 ^a	1,04 ± 0,07 ^b
IR	0,80 ± 0,08 ^a	0,76 ± 0,04 ^b
S/D	4,96 ± 0,22 ^a	4,31 ± 0,14 ^b

222 *Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tempos ($P < 0,05$)
 223 VPS - Velocidade de Pico Sistólico; VDF - Velocidade Diastólica Final; IP - Índice de
 224 Pulsatilidade; IR- Índice de Resistividade.
 225

226 A análise da relação cerebroplacentária (ACM/AU) demonstrou valores decrescentes
 227 entre os períodos P1 e P2, demonstrando diferença estatística significativa ($P < 0,05$) (Tabela
 228 5). Um outro índice proposto neste estudo, a relação entre a artéria carótida interna e a artéria
 229 umbilical (ArtCarInt/AU) apresentou valores próximos àqueles verificados para a relação
 230 ACM/AU, reduzindo entre os períodos P1 e P2, de igual modo apresentando diferença
 231 estatística significativa ($P < 0,05$) (Tabela 6).
 232

233 **Tabela 5.** Relação índice de pulsatilidade da artéria cerebral média e artéria umbilical (IP

	Relação IP ACM/AU	
	40-50 dias	51-60
	0,92 ± 0,03 ^a	0,87 ± 0,06 ^b
Frequência Cardíaca (FC)	250,09 ± 12,14 ^a	228,11 ± 18,20 ^b

234 ACM/AU= RCP).
 235
 236
 237

238 *Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tempos ($P < 0,05$)
 239 VPS - Velocidade de Pico Sistólico; VDF - Velocidade Diastólica Final; IP - Índice de
 240 Pulsatilidade; IR- Índice de Resistividade.
 241

242 **Tabela 6.** Relação IP artéria carótida interna/AU.

	Relação IP ACI/AU	
	40-50 dias	51-60
	0,91 ± 0,05 ^a	0,85 ± 0,04 ^b
Frequência Cardíaca (FC)	250,09 ± 12,14 ^a	228,11 ± 18,20 ^b

246 *Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tempos ($P < 0,05$)
 247 VPS - Velocidade de Pico Sistólico; VDF - Velocidade Diastólica Final; IP - Índice de
 248 Pulsatilidade; IR- Índice de Resistividade.
 249

250

251 **DISCUSSÃO**

252 A identificação de problemas relacionados ao curso da gestação em cadelas permanece
 253 desafiadora em Medicina Veterinária. Inúmeros pesquisadores têm se dedicado a aquisição de
 254 dados que possam direcionar a previsão do parto, ou ainda os riscos quanto da decisão do
 255 parto normal ou cesariana [7,26,28,29,44]. A Medicina humana há muito tempo tem
 256 observado que neonatos que nascem entre 39 e 40 semanas de gestação apresentam melhores
 257 resultados, haja vista o fato de que períodos inferiores a estes tornam o feto mais propensos a
 258 complicações decorrentes da imaturidade e, culminando com o aumento da mortalidade
 259 neonatal ou no pós-parto [38]. Diante disso, nossos estudos foram realizados a partir de
 260 cadelas no terço final de gestação entre 40 a 60 dias (P1 = 40-50 dias; P2 = 51-60 dias).

261 Diante de uma medicina fetal humana com maior repertório de informações, talvez
 262 nosso grande desafio seja encontrar uma “interssecção” entre as fases da gestação tão
 263 diferentes entre humanos e pequenos animais, afim de que possamos instrumentalizar melhor
 264 nossas condutas obstétricas, reduzindo os riscos para o feto ao nascimento. Todas as cadelas
 265 foram avaliadas e consideradas aptas para seguir até os 60 dias de gestação, especialmente
 266 monitoradas pela variabilidade da frequência cardíaca (FC). Neste estudo a FC se manteve
 267 sempre acima de 180 bpm, especialmente entre 12 a 72 horas antes do parto, conforme
 268 previamente descrito por Gil et al. (2014) [27] e Giannico et al (2015) [26].

269 Não pouco frequente, gestações que se desenvolvem “aparentemente normais” tem um
270 desfecho inesperado em cadelas gestantes, evoluindo com fetos natimortos ou que vão a óbito
271 no pós-parto, situação muitas vezes observada em gestações humanas [19]. Ocorre ainda a
272 necessidade de uma compreensão da magnitude destes problemas, observando fatores-chave,
273 como a idade gestacional, para os quais as informações existentes em Medicina Veterinária,
274 comparada à obstetricia humana, ainda são imprecisas [30]. Nesse contexto, importante
275 ressaltar que para este estudo foram selecionadas cadelas que entraram em trabalho de parto
276 aos 60 dias de gestação (data limítrofe para o tempo de gestação em cadelas), sendo
277 posteriormente submetidas a cirurgia cesariana, todas com fetos viáveis. Em obstetricia
278 humana é conhecida o risco aumentado de natimortos decorrentes de gestações prolongadas,
279 além de 41 semanas [6].

280 Os índices hemodinâmicos fetais são ferramentas valiosas na definição da linha tênue
281 entre valores de fluxo presumidamente normais e os que podem denotar anormalidades no
282 seguimento da gestação. Artéria umbilical, artéria cerebral média e artéria uteroplacentária
283 foram eleitas para serem analisadas, neste experimento clínico, porque são os vasos mais
284 importantes na avaliação do bem-estar fetal e no monitoramento, de forma não-invasiva, da
285 “unidade fetoplacentária” em humanos [5], e animais [2,28,39]. Avaliação auxiliar foi ainda
286 realizada por meio das artérias carótidas fetais. Os valores hemodinâmicos obtidos para a
287 artéria umbilical mostraram-se significativamente diferentes entre 40 e 50 dias de gestação
288 (P1), quando comparados ao restante da gestação (51 a 60 dias) (P2), o que também foi
289 documentado por outros autores para este vaso [8,9]. A artéria umbilical dos fetos estudados
290 foi caracterizada por seu leito vascular de baixa resistência, com fluxo contínuo, para frente, ao
291 longo do ciclo cardíaco e fase diastólica aumentando entre os dois períodos avaliados ($P1 =$
292 $6,60 \pm 1,51$; $P2 = 14,13 \pm 1,20$), de modo que a relação S/D diminui com o avançar da
293 gestação ($P1=4,79 \pm 0,25$; $P2 = 3,20 \pm 0,11$), como foi descrito por Nautrup et al. (1998) [39],

294 Di Salvo et al. (2006) [18], Blanco et al. (2011) [10] e Acharya et al. (2005) [2]. Adotamos a
295 interrogação vascular da artéria umbilical em sua porção flutuante, conforme preconizado
296 pelo guideline de 2013 da Sociedade Internacional de Ultrassonografia em Obstetrícia e
297 Ginecologia, para realização de ultrassonografia Doppler obstétrica [11], haja vista ocorrer
298 diferença significativa entre os valores de fluxo mensuradas na porção de inserção do cordão
299 no feto, sua porção média e distal [24, 39, 18]. Semelhantemente a estudos prévios [33, 5], em
300 nossas avaliações, o índice de Resistividade (IR) e de Pulsatilidade (IP) da artéria umbilical
301 variaram no decorrer da gestação. Giannico et al., (2015) [26] descreveram que IR da artéria
302 umbilical diminuiu durante os períodos de 12-6 e 6-1 hora antes do parto, e que os valores
303 mais baixos foram menores ou iguais a 0,7 em cadelas com parto normal, quando comparados
304 as cadelas que desenvolveram estresse fetal, onde o IR mostrou-se aumentado, especialmente
305 6-1 hora antes da cesariana. O IP da artéria umbilical do fetos estudados mostrou diminuição
306 dignificante entre os tempos P1 e P2 neste estudo. Corroborando aos nossos resultados,
307 Nautrup (1998) [39] descreveu que o IP aumenta consistentemente da 5 a 6 semana de
308 gestação (35 a 42 dias), decrescendo a partir daí até o nascimento, enquanto Di Salvo et al.
309 (2006) [18] observaram uma maior diminuição entre a 6 e 7 semanas de gestação (42 e 49
310 dias), estes últimos valores assemelhando-se mais aos nossos dados, possivelmente por uma
311 pequena variação na localização da interrogação vascular entre autores. Castro et al. (2011)
312 [13] relataram que o aumento do índice de pulsatilidade, assim como a ausência fluxo
313 diastólico final ou fluxo diastólico reverso em artérias umbilicais têm sido utilizadas para a
314 detecção e vigilância de subgrupos de alta morbidade e mortalidade em fetos com distúrbios
315 de crescimento.

316 As características de fluxo da artéria uterina (IR, IP, perfil parabólico, monofásico, de
317 baixa resistência, sem entalhes) foram também descritas de modo semelhante por Nautrup
318 (1998) e Di Salvo et al. (2006) [18]. O fluxo diastólico aumentou significativamente no final

319 da gestação ($P1 = 17,96 \pm 3,51$; $P2 = 24,06 \pm 4,51$), com fases sistólicas e diastólicas bem
320 definidas [9,26]. Tais correlações são importantes, para a identificação de anormalidades no
321 transcorrer da gestação. Em mulheres não gestantes, o perfil de onda da artéria uterina é de
322 alta resistência, com baixo fluxo diastólico e a presença de um “entalhe precoce” (nouching),
323 que desaparece no final da gestação. Em humanos a persistência desta característica está
324 associada a resultados adversos tais como: restrição de crescimento fetal, pré-eclâmpsia,
325 aumento do risco de parto pré-maturo [23,32].

326 Ao longo da gestação, os pequenos vasos útero-placentários são habitualmente
327 sensíveis ao exame por doppler colorido [39]. Embora no terço final da gestação as artéria
328 uterina possa ser identificada próximo à placenta zonária, neste estudo, em sua maior parte,
329 foram vistas entre dois sacos gestacionais [16]. Os índices de resistividade (IR), pulsatilidade
330 (IP) e relação S/D mostram reduções progressivas no terço final da gestação. Acredita-se que
331 esta redução esteja relacionada ao desenvolvimento placentário e alterações histológicas das
332 artérias espirais, as quais são invadidas por células trofoblásticas que consomem sua cobertura
333 músculoelástica, tornando estas artérias mais calibrosas e estabelecendo conexões de baixa
334 resistência [1,41]. Esse remodelamento é essencial para o sucesso da placentação, mudando o
335 leito vascular da artéria uterina para um fluxo diastólico contínuo de baixa resistência.

336 A Artéria Cerebral Média (ACM) teve seus fluxos vasculares amplamente discutidos
337 durante a gestação em humanos [4,12,14,31]. A ACM dos fetos estudados evidenciaram
338 aumento do VPS e VDF no terço final da gestação, e a relação S/D mostrou-se diminuída,
339 diferindo significativamente entre P1 e P2. Apenas um único trabalho [22] traz informações
340 sobre os valores de fluxo da ACM em Medicina Veterinária, sendo os resultados semelhantes
341 aos encontrados para os fetos desta pesquisa. A literatura ainda é escassa quanto ao estudo
342 perfil hemodinâmico da ACM ao longo da gestação em cadelas. Tanto o IR quanto o IP
343 diminuíram substancialmente nos dois momentos estudados. Em fetos humanos a análise dos

344 fluxos da ACM tem sido realizada em pelo menos duas situações: estudo da anemia fetal e
345 para o cálculo da relação ACM/AU [5]. Para os fetos avaliados, os fluxos da ACM foram de
346 alta resistência, anterógrado e com fase diastólica contínua e que aumenta até o final da
347 gestação, conforme descrito por DeVore (2015) [17] e Dunn, Sherrell, Kumar (2017) [20] em
348 gestações com curso normal em humanos. A relação ACM/CU, conhecida como relação
349 cerebroplacentária (RCP) é obtida a partir da pela relação simples entre o IP da artéria
350 cerebral média e o da artéria umbilical. De fato, alterações da RCP, na medicina humana,
351 mostrou-se como um fator preditivo de complicações da gestação, caracterizando
352 redistribuição da circulação fetal, como resultado da adaptação compensatória de nutrientes e
353 oxigênio, resultantes da insuficiência placentária [15] . Este estudo demonstrou pela primeira
354 vez o comportamento da RPC em fetos caninos, propondo valores presumidamente normal
355 desse índice para a espécie.

356 As velocidades VPS e VDF da artéria carótida interna aumentaram progressivamente,
357 ao tempo em que o IR, IP e a relação S/D diminuíram, entre P1 e P2. Naultrup (1998) [39] foi
358 o primeiro autor a descrever a hemodinâmica na artéria carótida comum e seu comportamento
359 no decorrer da gestação, contribuindo com uma nova informação sobre os parâmetros de
360 fluxo cerebral em fetos caninos. Este autor evidenciou o comportamento quase constante
361 desse índice ao longo da gestação e diferentemente de nossos achados, observaram um
362 aumento do IP no final da gestação de cadelas. Para ele, o fluxo diastólico foi muitas vezes
363 indetectável em muitos entre 6 a 7 semanas de gestação, diferente de nossos achados, onde a
364 fase diastólica foi bem evidenciada. Acreditamos que esta diferença ocorreu principalmente
365 pela melhoria tecnológica dos equipamentos de ultrassonografia utilizados atualmente, pelo
366 tipo de filtro utilizado para a análise do sinal do fluxo diastólico, ou ainda como resultado
367 associados ao ângulo de insonação Doppler. Além disso, nossas análises foram realizadas na

368 artéria carótida interna, um ramo da artéria carótida comum mais intimamente relacionado
369 com a circulação cerebral.

370 A Doppler ultrassonografia dos vasos cerebrais tem sido utilizada em obstetrícia
371 humana para analisar quadros hipóxia perinatal e acidose [35,36]. Nesse contexto, a relação
372 entre o IP da Artéria carótica interna/PI da Artéria umbilical (ArtCarInt/AU) analisada neste
373 estudo mostrou valores próximos ($P1 = 0,91 \pm 0,05$; $P2 = 0,85 \pm 0,04$) aos obtidos para a
374 relação entre o IP da ACM/AU no terço final da gestação e com diferença significativa entre
375 P1 e P2. Cabe ressaltar que a artéria carótida interna é um vaso cuja a interrogação Doppler se
376 dá de forma menos dificultosa dependendo do operador que executa a avaliação. Wladimiroff
377 et al. (1987) [46] descreveram uma queda na relação ArtCarInt/AU ao longo da gestação
378 normal em fetos humanos. Estes autores relataram que em fetos com restrição de crescimento,
379 ocorrem valores elevados do índice de pulsatilidade na artéria umbilical associados a valores
380 reduzidos do índice de pulsatilidade na artéria carótida interna, sugerindo a presença de um
381 efeito de preservação cerebral (*brain-sparing effect*). Do mesmo modo que relatamos para a
382 relação ACM/CU, em nosso conhecimento, esta é a primeira vez que o índice de avaliação de
383 viabilidade fetal por meio da relação ArtCarInt/AU é reportado em Medicina Veterinária.

384

385

CONCLUSÃO

386 As velocidades de fluxo vascular da artéria uteroplacentária, artéria umbilical, cerebral
387 média e artéria carótida interna mostraram valores semelhantes aos previamente descritos na
388 literatura para cadelas em curso normal de gestação, respaldando os demais resultados obtidos
389 nesta pesquisa. A relação cerebroplacentária (RCP) e relação ArtCarInt/AU foram propostas
390 neste estudo pela primeira vez em obstetrícia Veterinária e demonstraram resultados
391 semelhantes aos encontrados na literatura humana. Acreditamos que estes dados podem ser
392 úteis na identificação da centralização fetal, tal qual ocorre na obstétrica humana,

393 contribuindo na caracterização da viabilidade fetal, fornecendo dados valiosos para a
394 programação mais efetiva do parto por cesariana, quando se fizer necessário, aumentando a
395 sobrevida dos recém-nascidos.

396 **36. Morales-Rosello, J; Khalil, A; Morlando, M, Bhide, A; Papageorghiou, A;**
397 **Thilaganathan, B. 2015.** Poor neonatal acid–base status in term fetuses with low
398 cerebroplacental ratio. *Ultrasound Obstetrics & Gynecology Off Journal International Society*
399 *of Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.* 45(2): 156–161.

400 **37. Moron, A.F; Milani, H.J.F; Barreto, E.Q.S; Araujo Júnior, E; Haratz, K.K, Rolo**
401 **L.C; Nardoza, L.M.M. 2010.** Análise da reprodutibilidade do Doppler de amplitude
402 tridimensional na avaliação da circulação do cérebro fetal. *Radiologia Brasileira. Colégio*
403 *Brasileiro de Radiologia e Diagnóstico por Imagem.* 43(6): 369–374.

404 **38. Muglu, J; Rather, H; Arroyo-Manzano, D; Bhattacharya, S; Balchin, I; Khalil, A;**
405 **Thilaganatha, B; Khan, K. S; Zamora, J; Thangaratinam, S. 2019.** Risks of stillbirth and
406 neonatal death with advancing gestation at term: a systematic review and metaanalysis of
407 cohort studies of 15 million pregnancies. *PLoS Medicine.* 1-16

408 **39. Nautrup, C. P. 1998.** Doppler ultrasonography of canine maternal and fetal arteries
409 during normal gestation. *Journal Reproduction Fertility.* 112(2): 301-314.

410 **40. Nautrup, C.P. 1996.** Duplexsonographie. In Atlas und Lehrbuch der Ultra-
411 schalldiagnostik bei Hund und Katze. Edition Nautrup, C. P. and Tobias, R. *Schluetersche*, 4:
412 314-322.

413 **41. Nicolaides, K. H; Rizzo, G; Hecher, K. 2000.** Placental and Fetal Doppler. *The*
414 *Parthenon Publishing Group Inc; New York.* 1: 35-66.

415 **42. Silva, L. D. M; Barbosa, C. C; Pereira, B. S. 2011.** O uso da ultrassonografia Doppler
416 na reprodução de cadelas e gatas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo
417 Horizonte, 35(2): 198-201.

418 **43. Simões, C. R. B; Santos, R. V; Silva, C. L; Prestes, N. C; Vulcano, L. C; Machado, V.**
419 **M. V. 2011.** Ultrassonografia Doppler na avaliação da gestação em cadelas. *Revista Medicina*
420 *Veterinária*. Simpósio Internacional de Diagnóstico por Imagem. Recife- PE 1: 142-144.

421 **44. Vieira, C. A; Bittencourt, R. F; Biscarde, C. E. A; Fernandes, M. P; Nascimento, A.**
422 **B; Romão, E. A; Carneiro, I. M. B; Silva, M. A. A; Barreto, R. O; Loiola, M. V. G. 2020.**
423 Estimated date of delivery in Chihuahua breed bitches, based on embryo-fetal biometry,
424 assessed by ultrasonography. *Animal Reproduction*.17(3): 1-9.

425 **45. Wahed, S. R. A; Mustafa, F. A. 2013.** Patterns of spectral analysis of fetal middle
426 cerebral artery associated with intrauterine growth retardation. *Asian Academy of*
427 *Management Journal*. 11(3): 252-260.

428 **46. Wladimiroff, J. W; Wijngaard, J. A; Degani, S; Noordam, M. J; Eyck, J; Tonge,**
429 **H. M. 1987.** Cerebral and umbilical arterial blood flow velocity waveforms in normal and
430 growth-retarded pregnancies. *Obstetrics & Gynecology*. 69(5):705-9.

431

432 **Legendas**

433 **Figuras**

434 Figuras 1. A. diâmetro biparietal. B. mensuração dos valores de VDS, VDF, IR e IP da artéria
435 uteroplacentária. C. mensuração dos valores dopplervelocimétricos da artéria cerebral
436 média. D. mensuração dos valores dopplervelocimétricos da artéria umbilical

437 **Tabelas**

438 Tabela 1. Valores dopplervelocimétricos da artéria umbilical nas fases 40-50 dias e 51-60
439 dias de idade gestacional.

440 Tabela 2. Valores dopplervelocimétricos da artéria uteroplacentária nas fases 40-50 dias e
441 51-60 dias de idade gestacional

442

443 Tabela 3. Valores dopplervelocimétricos da artéria cerebral média nas fases 40-50 dias e 51-
444 60 dias de idade gestacional

445

446 Tabela 4. Valores dopplervelocimétricos da artéria carótida comum nas fases 40-50 dias e
447 51-60 dias de idade gestacional

448

449 Tabela 5. Relação índice de pulsatilidade da artéria cerebral média e artéria umbilical (IP
450 $ACM/AU = RCP$)

451

452 Tabela 6. Relação IP artéria carótida comum/AU

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ultrassonografia bidimensional com Doppler é de suma importância para a avaliação da circulação materno-fetal, contudo, as pesquisas envolvendo a ultrassonografia gestacional, apesar de cada vez mais explorada, na medicina veterinária ainda é escasso o acervo, sendo insuficiente para obter parâmetros que possam ter como referências na avaliação gestacional de rotina. Com o estudo executado pelo grupo de pesquisa NUDIVE-UFPI, foi possível obter valores dopplervelocimétricos que podemos considerar capazes de prever valores hemodinamicamente normais, visto que correspondem às alterações, supostamente fisiológicas, encontradas em outros trabalhos. Este trabalho ganha mais importância ainda pelo fato de que além de estabelecer os valores hemodinâmicos presumidamente normais da artéria umbilical e artéria uteroplacentária, que nos dispõe da avaliação da função placentária, é possível explorar um viés ainda novo na medicina veterinária, como os fluxos da artéria cerebral média e artéria carótida comum dos fetos, capaz de avaliar indiretamente a avaliação fetal, e correlacionar todos os fluxos dos vasos em estudos, para que se possa avaliar a viabilidade fetal de maneira completa e mais objetiva. Sendo assim, este trabalho é capaz de ser uma referência dos parâmetros de normalidade para a avaliação na rotina clínica de atendimento e realização da ultrassonografia gestacional de cadelas, para que possamos determinar se os fetos possuem viabilidade fetal, livres de sofrimento fetal, avaliando de maneira indireta também a circulação cerebral fetal.

5. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, H. M.; TOLEDO, V.P.C.P.; PINHEIRO, M. B.; GUIMARÃES, T. M. P. D.; OLIVEIRA, N. C, et al. Evaluation of miltefosine for the treatment of dogs naturally infected with *L. infantum* (=L. chagasi) in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 181, n. 2–4, p. 83–90, 2011.
- ARAÚJO, C. M. C.; COSTA, A. S.; RISSO, J. M. R. Uso da miltefosina como terapia combinada em leishmaniose visceral canina – relato de caso. *Enciclopédia biosfera*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.15 n.27; p. 2018.
- ASHFORD, R. W. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clinic in Dermatology*, v. 14, p. 523-532, 1996.
- ASTRAUSKAS, J. P.; CAMARGOS, A. S. Ceratoconjuntivite seca em cães – revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, v.1, n. 20, p. 29-37, 2013.
- AZEVEDO, M. G. Uveíte em cães: revisão bibliográfica. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, 2017.
- BARBOSA V.T.; SILVA M.A.G.; SOUSA M.G.; GERING A.P.; SANTOS H.D.; LAUS J. L. Detecção de formas amastigotas em exame parasitológico de esfregaço obtido a partir de suabe conjuntival de cães com leishmaniose visceral. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 64, n. 6, p. 1465-1470, 2012.
- BETTIO, M. Repercussões oculares e perioculares da leishmaniose visceral em cães. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, 2017.
- BLAVIER, A.; KEROACK, S.; DENEROLLE ph.; GOY-THOLLOT, I.; CHABANNE, L.; CADORÉ, J. L.; BOURDOISEAU, G. Atypical forms of canine leishmaniosis. *Veterinary Journal*, v. 162, n. 2, p. 108-120, 2001.
- BRITO F. L. C.; ALVES L.C.; MAIA F. C. L.; SANTOS E. S. C.; LAUS J. L.; e MEUNIER I.M.J. Ocular alterations in dogs naturally infected by *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n. 5, p. 768–775, 2006.
- BRITO, F.L.C.; LAUS, J.L.; TAFURI, W.L.; Figueiredo, M. M.; JÚNIOR, V. A. S.; MAIA, F. C. L.; ALVES, L. C. Histopathological findings and detection of parasites in the eyes of dogs infected naturally with *Leishmania chagasi*. *Ciência Rural*, v.40, p.1141-1147, 2010.

CESSE, E. A. P.; CARVALHO, E. F.; ANDRADE, P. P.; RAMALHO, W. M.; LUNA L. Organização do espaço urbano e expansão do calazar. *Revta Bras. Saúde Matern. Infant*, v. 1, p. 167-176, 2001.

CHERRY, L. R.; SMITH, D. J.; SHLOMO, B. G. Canine oral mucosa evaluation as a potential autograft tissue for the treatment of unresponsive keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary Ophthalmology*, v.21, p. 48-51, 2017.

CIARAMELLA, P.; OLIVA, G.; DE LUNA, R. GRADONI, L.; AMBROSIO, R.; CORTESE, L.; SCALONE, A.; PERSECHINO, A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet. Rec.*, v.141, p.539- 543, 1997.

COSTA, C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.44, n.2, p.232-242, 2011.

DANTAS-TORRES, F. e BRANDÃO-FILHO, S. P. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Estado de Pernambuco. *Revta Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 39, p. 352-356, 2006.

DANTAS-TORRES, F.; SALES, K. G. S.; SILVA, L. G.; OTRANTO, D.; FIGUEREDO, L. A. Leishmania FAST15: a rapid, sensitive and low-cost real-time PCR assay for the detection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* kinetoplast DNA in canine blood samples. *Molecular and Cellular Probes*, p. 3165-3169, 2017.

Di PIETRO, S.; BOSCO, V. R. F.; CRINO, C.; FRANCAVIGLIA, F.; GIUDICE, E. Prevalence, type, and prognosis of ocular lesions in shelter and owned-client dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet. World*, v. 9, n. 6, p. 633-637, 2016.

DOWER, N. M. B.; AMORIM, T. M.; RIBEIRO, A. P.; DIAS, A. F. L. R.; SOUSA, V. R. F. Edema de córnea severo em cão naturalmente infectado por *Leishmania* spp. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 48, suppl 1, 2020.

EGUCHI, G. U.; OLIVEIRA, G. G.; BABO-TERRA, V. J.; SOUZA, A. I.; BARROS, M. I. P. Ceratoconjuntivite nodular em um caso de leishmaniose visceral canina: relato de caso. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.69, n.6, p.1480-1484, 2017.

FARIA, A. R.; ANDRADE, H. M. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. *Rev Pan-Amaz Saude*, v.3, n.2, 2012.

- FERREIRA, S. A.; ITUASSU, L. T.; MELO, M. N.; ANDRADE, A. S. R. Evaluation of the conjunctival swab for canine visceral leishmaniasis diagnosis by PCR-hybridization in Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 152, p. 257-263, 2008.
- FERRER, L.; MOLLEDA, C. P.; WALDER, E. Skin lesions in canine leishmaniasis. *Journal Small Animal Practice*, v. 29, p. 381-388, 1988.
- FRANÇA-SILVA, J. C.; BARATA, R. A.; COSTA, R. T.; MONTEIRO, E. M.; MACHADO COELHO, G. L. L.; VIEIRA, E. P.; PRATA, A.; MAYRINK, W.; NASCIMENTO, E.; FORTES-DIAS, C. L.; SILVA, J. C.; DIAS, E. S. Importance of *Lutzomyia longipalpis* in the dynamics of transmission of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Porteirinha municipality, Minas Gerais, Brazil. *Vet Parasitol*, v. 131, n. 3-4, p. 213-220, 2005.
- FREITAS, J. C.; NUNES-PINHEIRO, D. C.; NETO, B.; SANTOS, G.; ABREU, C.; BRAGA R.; CAMPOS, R. M.; OLIVEIRA, L. F. Alterações clínicas e laboratoriais em cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi*. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.45, n. 1, p. 24-29, 2012.
- FULGÊNCIO, G. O.; RIBEIRO, R. R.; BORGES, K. D. A.; MICHALICK, M. S. M.; VIANA, F. A. B. Manifestações oculares e perioculares da leishmaniose visceral canina: 65 casos (2003-2005). In: Congresso de Pequenos Animais da Anclivepa, 2006, Vitória, Anais., p.87, 2006.
- FULGÊNCIO, G. O.; VIANA, F. A. B.; MICHALICK, M. S. M. Alopecia periocular, blefarite, ceratoconjuntivite e uveíte: Manifestações oftálmicas da leishmaniose visceral canina? *Revista Universidade Rural. Série Ciências da Vida*, v. 24, Suplemento, p. 31-32, 2004.
- GILGER, B. C.; HOLLINGSWORTH, S. R. Diseases of the uvea, uveitis, and recurrent uveitis. In: *Equine Ophthalmology*. 3rd edn. Ames: John Wiley e Sons Inc., pp.368-415, 2011.
- GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Rev Bras Epidemiol*, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.
- HENDRIX, D.V.H. Diseases and surgery of the canine anterior uvea. *Essentials of Veterinary Ophthalmology*. 2nd edn. Oxford: Blackwell Publishing, pp.189-216, 2013.
- JORGE, T. A.; HONSHO, S. C.; PEREIRA, F. L.; DIAS, G. G. G.; DIAS, G. G. F. Diferentes respostas ao tratamento clínico na ceratoconjuntivite seca em cães. *Enciclopédia Biosfera*, v.11 n.21; p. 764, 2015.
- KOUTINAS, A.F.; POLIZOPOULOU, Z. S.; SARIDOMICHELAKIS, M. N.; ARGYRIADIS, D.; FYTIANOU, A.; PLEVRAKI, K. G. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis

in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v. 35, n. 5, p. 376-383, 1999.

LEISHVET. Manejo clínico da Leishmaniose canina e felina. Disponível em: <<http://www.leishvet.org/wp-content/uploads/2018/09/PO-Guidelines.pdf>> acesso: 15 jan 2021.

MAIA, C., CAMPINO, L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Vet Parasitol.*, v. 158, n. 4, p. 274-287, 2008.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Biomarkers Associated With *Leishmania infantum* Exposure, Infection, and Disease in Dogs. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, v. 8, n. 302, 2018.

MAURICIO, I. “*Leishmania* taxonomy,” in *The Leishmaniasis: Old Neglected Tropical Diseases*, 1st Edn, eds F. Bruschi and L. Gradoni (Vienna: Springer Verlag), p. 15–30, 2018.

MENDES, S. W.; SILVA, A. A. M.; TROVÃO, J. R.; SILVA, A. R.; COSTA J. M. L. Expansão espacial da Leishmaniose visceral Americana em São Luís do Maranhão, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 35, p. 227-231, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. 1ª Edição. Brasília: MS; 2014.

MIRÓ, G.; OLIVA, G.; CRUZ, I.; CANAVATE, C.; MORTARINO, M.; VISCHER, C.; BIANCIARDI, P. Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Veterinary Dermatology*, v. 20, n. 5–6, p. 397–404, 2009.

MOREIRA JR, E. D.; SOUZA, V. M. M.; SREENIVASAN, M.; LOPES, N.; BARRETO, R. B.; CARVALHO, L. P. Peridomestic risks factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. *Am J Trop Med Hyg*, v. 69, n. 4, p. 393-397, 2003.

MORENO, E. C.; MELO, M. N.; GENARO, O.; LAMBERTUCCI, J. R.; SERUFO, J. C.; ANDRADE, A. S. R.; ANTUNES, C. M. F.; CARNEIRO, M. Risk factors for *Leishmania chagasi* infection in an urban área of Minas Gerais State. *Rev Soc Bras Med Trop.*, v.38, n.6, p. 456-463, 2005.

MORIBAYASHI, M. A. I. Avaliação ocular de cães com Leishmaniose visceral canina – Relato de 11 casos. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade de Brasília, 2019.

MOTTA, D. A.; YAMASAKI, L.; SANCHES, O. C.; GIUFFRIDA, R.; CÂNDIDO, E. R.; PEREIRA, C. S. G.; GÓES, J. E.; ROCHA, T. L. A.; SILVA, D. A.; SILVA, M. C. A.; BASSO, K. M.; ANDRADE, S. F. Comparação entre dois protocolos de tratamento de ceratoconjuntivite seca experimentalmente induzida em coelhos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 66, n. 1, p. 47-54, 2014.

PIETRO, S.; BOSCO, V. R. F.; CRINÒ, C.; FRANCAVIGLIA, F.; GIUDICE, E. Prevalence, type, and prognosis of ocular lesions in shelter and owned-client dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Veterinary World*, v. 9, n. 6, p. 633-637, 2016.

PEÑA, M. T.; NARANJO, C.; KLAUSS, G.; FONDEVILA, D.; LEIVA, M.; ROURA, X.; DAVIDSON, M. G.; DUBIELZIG, R. R. Histopathological Features of Ocular Leishmaniasis in the Dog. *Journal of Comparative Pathology*, v. 138, n. 1, p. 32-39, 2008.

PEÑA, M. T.; ROURA, X.; DAVIDSON, M. G. Ocular and periocular manifestations of leishmaniasis in dogs: 105 cases (1993- 1998). *Vet. Ophthalmol.*, v. 3, p. 35-41, 2000.

PUMAROLA, M.; BREVICK, L.; BADIOLA, L.; VARGAS, A.; DOMINGO, M.; FERRER, L. Canine leishmaniasis associated with systemic vasculitis in two dogs. *Journal of Comparative Pathology*, v. 105, p. 279, 1991.

REIS, L. L.; BALIEIRO, A. A. S.; FONSECA, F. R.; GONÇALVES, M. J. F. Changes in the epidemiology of visceral leishmaniasis in Brazil from 2001 to 2014. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 50, no. 5, pp. 638-645, 2017.

RIDLEY, D. S.; RIDLEY, M. J. The evolution of the lesion in cutaneous leishmaniasis. *Journal of Pathology*, v. 141, p. 83-96, 1983.

SAUQUILLO, M. C. T. La Leishmaniosis canina. 2ª Parte. Manifestaciones oculares em la leishmaniosis canina. *Inf. Vet. Revista Oficial del Consejo General de Colegios Veterinarios de España*, p. 39-43, 2005.

SILVA, S. M. Avaliação clínica e laboratorial de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (cunha & chagas, 1937), submetidos a um protocolo terapêutico em clínica veterinária de Belo Horizonte [Dissertação]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais, Setor de Parasitologia; 2007.

SOUSA, A. R. P.; RORIZ, Y. S.; CASTRO, S. V. Miltefosina no tratamento de leishmaniose visceral canina. *Jorn. Inter. Bioc.*, v.5, n.1, 2020.

STEINDEL, M.; MENIN, A.; EVANGELISTA, T.; STOCO, P. H.; MARLOW, M. A.; FLEITH, R. C.; PILATI C.; GRISARD, E. C. Outbreak of autochthonous canine visceral leishmaniasis in Santa Catarina, Brazil. *Pesq. Vet. Bras*, v. 33, p. 490-496, 2013.

VILLAGRASA, M.; CASCALES, M. J.; BERNAEZ, S. Manifestaciones oculares en la leishmaniasis canina. Revisión. *Revista AVEPA*, v. 22, n. 4, p. 279-285, 2002.

VIRBAC. Milteforan. Disponível em <https://s3-sa-east-1.amazonaws.com/vetsmart-contents/Documents/DC/Virbac/Milteforan_O_Unico_Produto_Aprovado_Tratamento_Leishmaniose_Visceral_Canina_Brasil.pdf> Acesso em 20 jan 2021.

WHO. Urbanization: an increasing risk factor for *Leishmaniasis*. *Weekly Epidemiological Record*, v. 77, p. 365-372, 2002.

WILLIAMS, D. L. Immunopathogenesis of keratoconjunctivitis sicca in the dog. *Vet. Clin. Small Anim. Pract.*, v.38, p.251-268, 2008.

WOERLY, V.; MAYENARD, L.; SANQUER, A.; HYONE-MYONG, E. U. N. Clinical efficacy and tolerance of miltefosine in the treatment of canine leishmaniosis. *Parasitology Research*, v. 105, n. 2, p. 463–469, 2009.