

HELENA MONDARDO CARDOSO PISSETTI

Capítulo I - ECOCARDIOGRAFIA EM CÃES DA RAÇA SHIH-TZU - Efeitos do peso corporal, índice de massa corporal (IMC), condição corporal, idade e gênero no estabelecimento de valores de referência; Capítulo II – Ocorrência de dirofilariose em cães do município de Lages - SC.

Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Barbosa de Moura

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo Ferian

LAGES - SC

Lages, junho de 2019.

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com auxílio
do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Pissetti, Helena Mondardo Cardoso

Capítulo I - ECOCARDIOGRAFIA EM CÃES DA RAÇA

SHIH-TZU - Efeitos do peso corporal, índice de massa
corporal (IMC), condição corporal, idade e gênero no
estabelecimento de valores de referência; Capítulo II
?

Ocorrência de dirofilariose em cães do município de
Lages -

SC / Helena Mondardo Cardoso Pissetti Mondardo Cardoso
Pissetti. -- 2019.

86 p.

Orientador: Anderson Barbosa de Moura

Coorientador: Paulo Eduardo Ferian

Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de

Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2019.

1. ecocardiografia. 2. Shih-tzu. 3. Parâmetros de
referência. 4. Cães. 5. Dirofilariose. I. Moura,
Anderson

Barbosa de . II. Eduardo Ferian, Paulo . III.
Universidade do

HELENA MONDARDO CARDOSO PISSETTI

CAPÍTULO I - ECOCARDIOGRAFIA EM CÃES DA RAÇA SHIH-TZU - EFEITOS DO PESO CORPORAL, ÍNDICE DE MASSA CORPORAL (IMC), CONDIÇÃO CORPORAL, IDADE E GÊNERO NO ESTABELECIMENTO DE VALORES DE REFERÊNCIA; CAPÍTULO II – OCORRÊNCIA DE DIROFILARIOSE EM CÃES DO MUNICÍPIO DE LAGES - SC.

Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, como requisito para obtenção do título de doutor em Ciência Animal.

Banca Examinadora:

Orientador: _____
Prof. Dr. Anderson Barbosa de Moura
Departamento de Medicina Veterinária-CAV/UDESC

Membro: _____
Prof. Dr. Thiago Rinaldi Muller
Departamento de Medicina Veterinária-CAV/UDESC

Membro: _____
Dr. James Newton Bizetto Meira Andrade
Departamento de Medicina Veterinária UFVJM

Membro: _____
Dr. Marlos Gonçalves Souza
Departamento de Medicina Veterinária UFPR

Membro: _____
Dr. Ademir Cassiano da Rosa
Departamento de Medicina Veterinária-CAV/UDESC

Lages, junho de 2019.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a uma pessoinha muito especial que apareceu em nossas vidas no meio do Doutorado. Bernardo, meu filho amado, tua chegada atrasou um pouco o transcorrer desta fase acadêmica, mas com você aprendo diariamente o que nenhuma escola ensinaria. Agradeço imensamente por ter você e aprender o que é amor. Você é minha fonte de inspiração e me dá motivação para seguir qualquer desafio.

Chrystian, obrigada por todo amor, paciência e apoio em mais esta fase acadêmica que agora se finaliza, te amo.

Aos meus pais, pessoas que admiro muito e que sempre me apoiaram incondicionalmente. Obrigada Pai e Mãe, por serem meu eterno exemplo e por acreditarem, sempre, em mim. Aos meus irmãos Henrique, Heloisa e Heitor, pela parceria de sempre, apesar da distância física nossos corações sempre estarão ligados. Amo todos vocês.

A Neve, minha filha canina, por me mostrar cada vez mais o quanto o cão é o melhor amigo do homem, uma amiga incondicional, te amo branquinha.

Também no meio deste percurso descobri o amor de uma filha felina, Lilica, obrigada por compartilhar comigo esta jornada.

Às minhas colegas de pós-graduação Ronise e Alessandra, o apoio de vocês foi essencial. À aluna Larissa que sempre se mostrou disponível para ajudar. Aos professores e residentes do HCV-CAV, pelas indicações dos pacientes.

Não posso deixar de agradecer especialmente a Ronise, amiga de longa data, que juntas temos trilhados caminhos semelhantes, só tenho de agradecer por toda a sua participação neste trabalho e de várias etapas de nossas vidas, com certeza você vai morar no meu coração, sempre.

Gostaria de agradecer as novas amigas que encontrei na pós-graduação, Eloisa e Lívia, vocês não participaram diretamente no trabalho, mas a amizade de vocês, com certeza, fez esta trajetória se tornar mais divertida e engraçada! Ao

Thiago Rinaldi Müller agradeço primeiramente por estar sempre disposto a ajudar e por estar novamente alegrando nossas vidas com seu jeito despojado de ser.

À equipe da Clínica Cães e Gatos também deixo aqui meus sinceros agradecimentos pela compreensão da minha ausência, e em especial ao Stolf, Iliane e Aline pela parceria nas necessárias trocas de plantão.

Agradeço a Universidade do Estado de Santa Catarina pela oportunidade de dar sequência a mais esta etapa de formação acadêmica e pela oportunidade de lecionar, o que acredito estar contribuindo muito para o meu crescimento profissional e pessoal.

Ao Professor Dr. Anderson Barbosa de Moura pela oportunidade de realizar o Doutorado e pela orientação. Agradeço de coração.

Ao professor Paulo Eduardo Ferian, pelo apoio como co-orientador, e por tudo que aprendi durante os quatro anos que pude conviver como colega na docência, onde pude aprender muito com você. E também pela amizade que construímos...muito obrigada pela oportunidade de convivência, por ser um ser do bem e me fazer ainda acreditar que o bem sempre prevalecerá.

Ao Dr. André M. Gimenes por toda contribuição na parte estatística desde estudo. Muito obrigada.

À equipe Unoesc Campos Novos, minha nova missão de trabalho.

À banca examinadora pela disponibilidade e tempo dedicado. Muito obrigada.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina – Chamada Pública 04/2014 (PAP/UDESC – Apoio à infraestrutura para grupos de pesquisa da UDESC) - Termo de Outorga: 293/2015

Por fim agradeço também ao Fundo de Apoio à Manutenção e ao Desenvolvimento da Educação Superior (FUMDES) pelo apoio financeiro (Bolsa de estudos) para dar continuidade a esta etapa acadêmica.

RESUMO

PISSETTI, H.M.C. **Capítulo I - Ecocardiografia em cães da raça Shih-tzu - Efeitos do peso corporal, índice de massa corporal (IMC), condição corporal, idade e gênero no estabelecimento de valores de referência; Capítulo II – Ocorrência de dirofilariose em cães do município de Lages - SC.** Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2019.

Tamanho, idade, gênero, peso e conformação corporal e torácica podem influenciar significativamente nos parâmetros ecocardiográficos. O número de cães da raça Shih-tzu tem crescido significativamente nos últimos anos no Brasil, evidenciando assim a necessidade de estudos específicos para esta raça. Os objetivos deste estudo foram: Fase I - Investigar a influência do peso corporal, índice de massa corporal (IMC), condição corporal, idade e gênero nos parâmetros ecocardiográficos em cães da raça Shih-tzu e determinar os parâmetros ecocardiográficos normais na raça supracitada; Fase II - Investigar a ocorrência de dirofilariose em cães da raça Shih-tzu e outras raças avaliadas, provenientes do município de Lages – SC. Foram avaliados 44 cães da raça Shih-tzu, sendo 24 machos e 20 fêmeas, entre um e 14 anos, com peso corporal de 3,1 a 9,4 kg. Foram realizados exame físico completo, hemograma, bioquímica sérica de todos animais utilizados para esta pesquisa. Na sequência foram realizadas as avaliações de pressão arterial sistólica (PAS), através de doppler vascular, e a ecocardiografia. A média da PAS dos animais avaliados foi de 140 ± 15 mmHG. Para os parâmetros SIVd, DIVEd, DIVEs e PPVEd, obtidos em modo M, foram observadas divergências em relação a estudos similares para cães com peso corporal semelhantes aos avaliados neste estudo. Referente aos parâmetros relativos ao fluxo transmitral, foram observadas médias diferentes das relatadas na literatura, para raças de peso corporal semelhante, e não foi observado influência das diferentes faixas de idade nos valores de ondas E, A e TRIV. As amostras de sangue total, colhidas com EDTA, foram armazenadas para extração de DNA e detecção de *Dirofilaria immitis* pela PCR. Além dos 44 animais utilizados na fase I, também foram avaliados mais 30 cães para detecção de DNA *D. immitis* no sangue. Todos animais apresentaram resultado negativo na PCR para pesquisa de *D. immitis*. Conclui-se que é essencial a utilização de valores de referência raça específicos, como os descritos neste estudo, para interpretação dos resultados de ecocardiograma em cães da raça Shih-tzu. Nas amostras analisadas de sangue de cães, provenientes da cidade de Lages, Santa Catarina, não foram observados animais positivos para *D. immitis*.

Palavras-chave: ecocardiografia, Shih-tzu, valores de referência, *Dirofilaria immitis*.

ABSTRACT

PISSETTI, H.M.C. **Chapter I - Echocardiography in Shih-tzu dogs - effects of body weight, body weight index (BWI), body condition, age and gender in the establishment of reference values; Chapter II - occurrence of Dirofilariosis in dogs of Lages - SC.** Thesis (Doctorate in Animal Science) - State University of Santa Catarina. Graduate Program in Animal Science, Lages, 2018.

Size, age, gender, weight and body and thoracic conformation may influence echocardiographic parameters. The number of characters of the Shih-tzu breed has grown in recent years in Brazil, thus evidencing the need for specific studies for this breed. The objectives of this study were: Phase I - To investigate body weight strength, body mass index (BMI), body condition, age and genetic order in race criteria. Phase II - Investigate the occurrence of problems in Shih-tzu dogs and other breeds evaluated, from the municipality of Lages - SC. Thirty-four Shih-tzu dogs were evaluated, being 24 males and 20 females, between one and 14 years old, with body weight of 3.1 to 9.4 kg. Complete chemical detoxification, blood count, serum biochemistry of all animals used for this research. The systolic blood pressure was measured using vascular doppler and an echocardiography. The mean SBP of the animals was evaluated at 140 ± 15 mmHG. The parameters SIVD, DIVEd, DIVES and PPVEd, visualized in M mode, differences were observed in relation to a similar study for dogs with body weight. References to the flow spectrum transmit, different types of literature were observed in the literature, similar body weight scales, and were not identified as being used in the age groups in E wave, A wave and TRIV values. As whole blood samples, collected with EDTA, were stored for DNA extraction and detection of *Dirofilaria immitis* by the PCR technique. In addition, the experimental tests were performed in phase I, plus more than 30 channels were evaluated for *D. immitis* DNA detection in the blood. This was held using diet-specific primers: for a "forward Diro" and "reverse Diro". The influence of PCR on antigen search for *Dirofilaria immitis*. It is concluded that the use of reference values as specific for this study is essential for the interpretation of echocardiographic results in Shih-tzu dogs. The samples of blood from dogs from the city of Lages, Santa Catarina, are not positive cases for *D. immitis*.

Key words: echocardiography, Shih-tzu, reference values, *Dirofilaria immitis*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Graduação de condição corporal para caninos, proposta por LAFLAMME (1997).....	3028
Tabela 2 - Avaliação de peso corporal (Kg), condição corporal, conforme escore adaptado de Laflamme (1997), perimetria torácica (cm), altura (m), índice de massa corpórea canino (IMCC), pressão arterial sistólica (PAS) (mmHG), idade e sexo de cães da raça Shih-Tzu.....	3835
Tabela 3 - Valores dos parâmetros e índices ecocardiográficos em modo B, modo M e modo doppler, em cães da raça Shih-Tzu.....	3936
Tabela 4 - Coeficientes de correlação determinados pelo teste de correlação de Pearson para análise do impacto do peso corporal, IMCC, perimetria torácica e altura nos parâmetros e índices ecocardiográficos.....	4744

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Imagem ultrassonográfica do coração de cão da raça Shih-tzu, em modo B. A: corte paraesternal longitudinal direito (via de saída do ventrículo esquerdo); B: corte paraesternal esquerdo apical 4 câmaras. VE = ventrículo esquerdo, VD = ventrículo direito, Ao= aorta, AE = átrio esquerdo. Valva atrioventricular esquerda (mitral) = seta branca. Valva atrioventricular direita (tricúspide) = seta azul.[3533](#)
- Figura 2 - Imagem ultrassonográfica do coração de cão da raça Shih-tzu, em modo M, corte paraesternal transversal direito, na altura dos músculos papilares, mostrando os ventrículos direito e esquerdo, em vários ciclos cardíacos, a mensuração das suas estruturas e índices funcionais do ventrículo esquerdo. DVDId* = dimensão interna do ventrículo direito na diástole; SIVd* = espessura do septo interventricular na diástole; DIVEd* = dimensão interna do ventrículo esquerdo na diástole; PPVEd* = espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole; DIVEs* = dimensão interna do ventrículo esquerdo na sístole.....[3634](#)
- Figura 3 - Gráfico de distribuição de frequência (histograma) dos parâmetros ecocardiográficos DIVEs, EPSS, Ao e VSF, cuja análise pelo teste Shapiro-Wilk não demonstrou distribuição normal, em cães da raça Shih-tzu.....[4038](#)
- Figura 4 - Gráficos de distribuição de frequências (histogramas) dos parâmetros ecocardiográficos dimensionais (AE, AE/Ao, DVDId, SIVd, DIVEd, PPVEd) e cálculos derivados (VDF, SIV/PPVEd, FS, FEt) cuja análise pelo teste Shapiro-Wilk demonstrou distribuição normal, em cães da raça Shih-tzu.....[4139](#)
- Figura 5 - Gráficos de distribuição de frequências (histogramas) dos parâmetros ecocardiográficos obtidos pelo método de Simpsons modificado (DC, FE), cuja análise pelo teste Shapiro-Wilk demonstrou distribuição normal, em cães da raça Shih-tzu.[4240](#)
- Figura 6 - Gráfico de distribuição de frequência (histograma) dos parâmetros ecocardiográficos onda E, E/TRIV e VS, cuja análise pelo teste Shapiro-Wilk não demonstrou distribuição normal, em cães da raça Shih-tzu.....[4341](#)
- Figura 7 - Gráficos de distribuição de frequências (histogramas) dos parâmetros ecocardiográficos VmaxVA, VmaxVP, onda A, E/A, TRIV, Empar, Ampar, Mitral E/Empar, cuja análise pelo teste Shapiro-Wilk demonstrou distribuição normal, em cães da raça Shih-tzu.....[4442](#)
- Figura 8 - Imagem ultrassonográfica dos corações de cães da raça Shih-tzu, em modo B, demonstrando espectro gráfico gerado pelo recurso doppler pulsátil. A: corte paraesternal direito, plano da aorta e tronco pulmonar, demonstrando fluxo pulmonar. B: corte paraesternal esquerdo, apical 5 câmaras, demonstra espectro do fluxo aórtico.[4543](#)
- Figura 9 - Imagem ultrassonográfica do coração de cão da raça Shih-tzu, em modo B, no corte paraesternal esquerdo apical 4 câmaras, demonstrando espectro gráfico gerado pelo recurso doppler pulsátil, para registro do fluxo na via de entrada do ventrículo esquerdo (fluxo transmitral), detectado durante a diástole ventricular..[4544](#)
- Figura 10 - Gráficos de correlação dos parâmetros ecocardiográficos relacionados ao fluxo transmitral e TRIV, em análise comparativa às diferentes faixas de idade (1-3 anos, 4-7 anos, 8-12 anos), em cães da raça Shih-tzu.[4644](#)

Figura 11 - Gráficos de correlação dos parâmetros ecocardiográficos referentes ao impacto do peso corporal, IMCC, perimetria torácica e altura nos parâmetros dimensão interna do átrio esquerdo (AE) e aorta (Ao), em cães da raça Shih-tzu.

.....[4846](#)

Figura 12 - Gráficos de correlação dos parâmetros ecocardiográficos referentes ao impacto do peso corporal, IMCC, perimetria torácica e altura nos parâmetros SIVd, PPVEd, em cães da raça Shih-tzu.[4947](#)

Figura 13 - Gráfico demonstrativo do impacto do sexo no parâmetro ecocardiográfico EPSS.....[5048](#)

LISTA DE ABREVIATURAS

AE	- Átrio esquerdo
AE:Ao	- Relação átrio esquerdo: aorta
ALT	- Alanina aminotransferase
Ao	- Aorta
CAV	- Centro de Ciências Agroveterinárias
CEUA	- Comissão de Ética no Uso de Animais
d	- Diástole
DC	- Débito cardíaco
DIVE	- Diâmetro interno do ventrículo esquerdo
EIC	- Espaço intercostal
EPSS	- Distância do septo interventricular ao ponto E do folheto anterior da válvula mitral
FA	- Fosfatase alcalina
FAPESC	- Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina
FE	- Fração de ejeção
FEt*%	- Fração de ejeção, obtida pelo método de Teichholz;
FS(%)	- Fração de encurtamento
FUMDES	- Fundo de Apoio à Manutenção e ao Desenvolvimento da Educação Superior
GP max AO	- Gradiente de pressão- fluxo aórtico (mm de Hg)
GP max PA	- Gradiente de pressão- fluxo artéria pulmonar (mm de Hg).
IMC	- Índice de massa corpórea
IMCC	- Índice de massa corpórea canino
MTD	- Membro torácico direito
PAS	- Pressão arterial sistólica
PCR	- Reação em cadeia da polimerase
PPVE	- Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo
s	- Sístole
SIV	- Espessura do septo interventricular
SIVd/PVEd	- Relação espessura do septo interventricular e da parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole
SRD	- Sem raça definida
TRIV	- Tempo de relaxamento isovolumétrico
UDESC	- Universidade do Estado de Santa Catarina
VD	- Ventrículo direito
VDF	- Volume diastólico final
VE	- Ventrículo esquerdo
Vmax Ao	- Velocidade de pico sistólico máximo de fluxo aórtico (cm/s)
VmaxPA	- Velocidade de pico sistólico máximo do fluxo artéria pulmonar
VS	- Volume sistólico
VSF	- Volume sistólico final

SUMÁRIO

1 CAPÍTULO I - ECOCARDIOGRAFIA EM CÃES DA RAÇA SHIH-TZU - EFEITOS DO PESO CORPORAL, ÍNDICE DE MASSA CORPORAL (IMCC), CONDIÇÃO CORPORAL, IDADE E GÊNERO NO ESTABELECIMENTO DE VALORES DE REFERÊNCIA.	14
1.1 INTRODUÇÃO	16
1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
1.2.1 ECOCARDIOGRAFIA	19
1.3 JUSTIFICATIVA	26
1.4 HIPÓTESES	27
1.5 OBJETIVOS	28
1.5.1 OBJETIVOS GERAIS	28
1.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
1.6 MATERIAIS E MÉTODOS	29
1.6.1 AFERIÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA	29
1.6.2 DETERMINAÇÃO DAS MEDIDAS CORPÓREAS E ESCORE CORPORAL	29
1.6.3 ECOCARDIOGRAFIA	31
1.6.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
1.7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
1.8 CONCLUSÕES	51
1.9 RELEVÂNCIA CLÍNICA	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
2 CAPÍTULO II – OCORRÊNCIA DE DIROFILARIOSE EM CÃES DO MUNICÍPIO DE LAGES - SC	62
2.1 INTRODUÇÃO	64
2.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	65
2.2.1 DIROFILARIOSE	65
2.3 JUSTIFICATIVA	70
2.4 HIPÓTESES	71
2.5 OBJETIVOS	72
2.5.1 OBJETIVOS GERAIS	72
2.6 MATERIAL E MÉTODOS	73
2.6.1 DETECÇÃO DE <i>D. immitis</i> PELA PCR	73
2.7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
2.8 CONCLUSÃO	78
2.9 RELEVÂNCIA CLÍNICA	79
2.10 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	80
2.11 AGRADECIMENTOS	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

“Faça o melhor que você pode, nas condições que você tem, enquanto você não tem condições melhores, para fazer melhor ainda!”

(Mário Sérgio Cortela)

RESUMO

1 CAPÍTULO I - ECOCARDIOGRAFIA EM CÃES DA RAÇA SHIH-TZU - EFEITOS DO PESO CORPORAL, ÍNDICE DE MASSA CORPORAL (IMCC), CONDIÇÃO CORPORAL, IDADE E GÊNERO NO ESTABELECIMENTO DE VALORES DE REFERÊNCIA.

Tamanho, idade, gênero, peso e conformação corporal e torácica podem influenciar significativamente nos parâmetros ecocardiográficos. A grande variação de peso e conformação corporal encontrada nas diferentes raças de cães pode ser um fator limitante na interpretação do exame ecocardiográfico. O número de cães da raça Shih-tzu tem crescido significativamente nos últimos anos no Brasil, evidenciando assim a necessidade de estudos específicos para esta raça. Os objetivos deste estudo foram investigar a influência do peso corporal, índice de massa corporal (IMC), condição corporal, idade e gênero nos parâmetros ecocardiográficos em cães da raça Shih-tzu e determinar os parâmetros ecocardiográficos normais na raça supracitada. Foram avaliados 44 cães da raça Shih-tzu, sendo 24 machos e 20 fêmeas, entre um e 14 anos, com peso corporal de 3,1 a 9,4 kg. Foi realizado exame físico completo, hemograma, bioquímica sérica de todos animais utilizados para esta pesquisa. Na sequência foram realizadas as avaliações de pressão arterial sistólica, através de doppler vascular e a ecocardiografia. Foram tomados os resultados de três medidas para cada parâmetro ecocardiográfico e realizada estatística descritiva para estes dados. Os parâmetros ecocardiográficos também foram comparados de forma descritiva com os valores de normalidade para a população canina em geral. Foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar se os dados possuíam distribuição normal e posteriormente a análise de variância. A média da PAS dos animais avaliados foi de 140 ± 15 mmHG. Para os parâmetros SIVd, DIVEd, DIVEs e PPVEd, obtidos em modo M, foram observadas divergências entre os resultados obtidos em estudos similares (com cães de peso corporal semelhante) e aos observados no presente estudo. Referente aos parâmetros relativos ao fluxo transmitral, foram observadas médias diferentes das relatadas na literatura, para raças de peso corporal semelhante, e não foi encontrada influência da idade nos valores de ondas E, A e TRIV. Conclui-se que, devido aos valores diferenciados encontrados neste estudo, em relação a outras raças, para diversos parâmetros e índices ecocardiográficos, é essencial o delineamento de parâmetros ecocardiográficos raça-específicos.

Palavras-chave: ecocardiografia, Shih-tzu, parâmetros de referência, cães, valores normais.

ABSTRACT

1 CHAPTER 1: ECHOCARDIOGRAPHY IN SHIH-TZU DOGS - EFFECTS OF BODY WEIGHT, BODY WEIGHT INDEX (IMCC), BODY CONDITION, AGE AND GENDER IN ESTABLISHMENT OF REFERENCE VALUES

Size, age, gender, weight and body and thoracic conformation may influence significantly the echocardiographic parameters. The number of dogs of the Shih-tzu breed has grown significantly in recent years in Brazil, thus evidencing the need for specific studies for this breed. The objectives of this study were to investigate the influence of body weight, body mass index (BMI), body condition, age and gender on echocardiographic parameters in Shih-tzu dogs. Thirty-four Shih-tzu dogs were evaluated, being 24 males and 20 females, between one and 14 years old, with body weight of 3.1 to 9.4 kg. A complete physical examination, blood count, serum biochemistry of all animals used for this research was performed. Systolic blood pressure measurements were then performed using a vascular Doppler and echocardiography. The results of 3 measurements were taken for each echocardiographic parameter and a descriptive statistic was performed for these data. The Shapiro-Wilk test was performed to verify if the data had a normal distribution and later the analysis of variance. The mean SBP of the animals evaluated was 140 ± 15 mmHG. For the SIVd, DIVEd, DIVEs and PPVEd parameters obtained in M mode, divergences were observed in relation to similar studies for dogs with body weight similar to those evaluated in this study. Regarding the parameters related to the transmitral flow, we observed different means of those reported in the literature, for races of similar body weight, and no influence of the different age ranges was found on E, wave A and TRIV values. It is concluded that, due to the differential values found in this study, in relation to other races, for several parameters and echocardiographic indices, the design of race-specific echocardiographic parameters is essential.

Key words: echocardiography, Shih-tzu, reference parameters, dogs, normal values.

1.1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os cuidados dispensados aos animais de estimação cresceram expressivamente. O último censo realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2015) estimou a população de cães em domicílios brasileiros em 52,2 milhões, o que dá uma média de 1,8 cachorro por domicílio. Estes dados revelam que, no Brasil, existem mais cachorros de estimação do que crianças. Este contexto coloca o cão assumindo papel de membro da família, o que influencia diretamente no nível de atenção, cuidado e investimento em saúde dos tutores para com seus animais.

Além dos cães apresentarem-se mais representativos em número nas famílias, a maior proximidade dos humanos e o aumento no nível de investimento em saúde resultou num aumento expressivo na expectativa de vida desta espécie nas últimas décadas. Diante desta nova realidade, a cardiologia destaca-se como especialidade na clínica de cães e gatos, visto que a incidência de patologias cardiovasculares adquiridas aumenta proporcionalmente à idade dos animais. Neste contexto, a avaliação da “saúde” cardíaca envolve diversas mensurações ecocardiográficas, as quais descrevem tamanho, forma e função do coração. Estas mensurações podem variar em função da raça, gênero, idade, peso corporal e frequência cardíaca dos animais (MORRISON et al., 1992, LANG et al., 2003; CORNELL et al., 2004, BAVEGEMS et al., 2007; LOBO et al., 2008; WESS et al., 2010; LOCATELLI et al., 2011; MISBACH et al. 2014).

Em um passado recente, as técnicas de radiografia torácica, eletrocardiografia e aferição da pressão arterial eram as principais utilizadas na avaliação cardíaca de animais de estimação (HENIK, 2002). Porém, com o avanço dos métodos de diagnóstico na medicina veterinária, a ecocardiografia passou a ganhar espaço e importância, tendo em vista, sua aplicabilidade na avaliação morfológica cardíaca e hemodinâmica do paciente (MANNION, 2006). A avaliação estrutural e funcional do coração e grandes vasos, realizada pela ecocardiografia, permite o diagnóstico de diversas alterações cardíacas, como afecções valvulares, anomalias congênitas, distúrbios de contração do miocárdio e efusão pericárdica, assim como o acompanhamento do tratamento instituído. Fornece ainda informações sobre a gravidade das lesões cardíacas e suas consequências hemodinâmicas sobre o

coração (LUSK e ETTINGER, 1990; YAMATO, 2001; HENIK, 2002; KIENLE e THOMAS, 2005).

O exame ecocardiográfico consiste em uma avaliação crítica e coerente sobre a morfologia e a funcionalidade do coração. A análise qualitativa pelo ecocardiografista nem sempre fornece informações precisas sobre a morfologia e função do coração, fazendo-se necessário padronizar medições, as quais permitem comparar as observações efetuadas com valores ditos normais para cães e determinar se o animal se encontra saudável ou com alguma doença cardíaca. A interpretação do exame ecocardiográfico depende tanto da avaliação qualitativa, quanto da avaliação quantitativa das estruturas cardíacas, por meio dos modos B e M (HALL et al., 2008). Della torre et al. (2000) ainda citam que cães de diferentes raças com o mesmo peso apresentam diferentes valores ecocardiográficos.

Segundo Castro et al. (2011), dentre as principais limitações do uso dos parâmetros e índices ecocardiográficos está a variação entre as diferentes raças de cães. Hall et al. (2008) observaram que o peso corporal influencia menos nos parâmetros ecocardiográficos do que as variações entre diferentes raças. Diversos estudos foram realizados com intuito de padronizar os valores ecocardiográficos em raças caninas como Pastor Alemão, Poodle Miniatura, Golden Retriever, Boxer, Schnauzer miniatura, English Bull Terriers e York-shire (MUZZI et al., 2000; YAMATO et al., 2006; PELLEGRINO et al., 2007; SILVA et. al., 2008, CASTRO et al., 2011). Morrison et al. 1992 ainda observaram que, diferenças nos valores ecocardiográficos, entre as raças, independentes do peso, também são encontradas, fato que ressalta a importância de estudos específicos para cada raça canina. Para a raça Shih-tzu, não existem publicações padronizando parâmetros e índices ecocardiográficos, até o presente momento.

Foram observados impactos significativos dos valores de massa e peso corporal nos parâmetros ecocardiográficos, devido às grandes variações de tamanho e conformação dentro da população canina, (SISSON e SCHAUFFER, 1991; MORRISON et al., 1992; SNYDER et al., 1995). Alguns estudos demonstraram que idade e/ou gênero influenciaram nas variáveis ecocardiográficas, justificando a avaliação do impacto destas variáveis, dentro de uma mesma raça, proposto no presente estudo (LONSDALE et al., 1998; VOLLMAR et al., 1999; KAYAR et al., 2006;

MUZZI et al., 2006; BAVEGEMS et al., 2007; LOBO et al., 2008; VÖRÖS, et al., 2009; LOCATELLI et al., 2011).

A raça Shih-tzu, assim como outras raças caninas, tem sua origem associada a uma lenda que trata do símbolo do amor impossível entre uma princesa chinesa e um mongol (povo predominante no Tibete). Segundo essa lenda, diante da impossibilidade de realizarem o casamento, o casal resolveu cruzar um legítimo representante da China, o Pequinês, com um representante do Tibete, o Lhasa Apso. Da união das raças surgiu o Shih-Tzu, simbolizando tudo o que há melhor nas duas culturas, e o amor entre os dois povos. Seu nome significa "cão leão que nunca desiste" (FLOGE, 2009). O número de cães da raça Shih-tzu tem crescido significativamente nos últimos anos no Brasil. Na cidade de Lages, Santa Catarina, em um levantamento de atendimentos de cães, realizado em um estabelecimento particular, observou-se que, em um período de um ano, foram atendidos 5678 cães, destes 1522 (26,8%) eram sem raça definida (SRD), 580 (10,23%) da raça York-Shire e 510 (9%) da raça Shih-tzu, evidenciando a ascensão regional desta raça (Dados Pessoais).

Tendo em vista o significativo aumento populacional dos cães raça Shih-tzu, às cardiopatias adquiridas que os acometem, à variabilidade dos parâmetros ecocardiográficos entre as raças caninas e à escassez de trabalhos visando ao estudo ecocardiográfico na raça citada, o presente estudo tem por objetivo determinar os parâmetros ecocardiográficos em cães da raça Shih-tzu e investigar a influência do peso corporal, idade e gênero nos parâmetros ecocardiográficos em cães desta raça.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 ECOCARDIOGRAFIA

A ecocardiografia permite uma visualização não invasiva e não ionizante do aparelho cardiovascular, incluindo as artérias aorta e pulmonar, os ventrículos e os átrios as aurículas e as válvulas cardíacas (ABDUCH, 2004; BOON, 2011). Assim, este exame possibilita uma avaliação estrutural e funcional, fornecendo importantes informações acerca do estado hemodinâmico do paciente (MANNION, 2006). A rápida frequência de aquisição das imagens, através da ecocardiografia, permite a avaliação do movimento cardíaco ao longo do tempo, tornando possível avaliar a função mecânica cardíaca de modo não invasivo (KIENLE e THOMAS, 2005). Além disso, o ecocardiograma possibilita o diagnóstico de diversas alterações cardíacas, como afecções valvulares, anomalias congênitas, distúrbios de contração do miocárdio e efusão pericárdica, assim como permite o acompanhamento do tratamento instituído. Fornece ainda informações sobre a gravidade das lesões cardíacas e suas consequências hemodinâmicas sobre o coração (LUSK e ETTINGER, 1990; YAMATO, 2001; HENIK, 2002; KIENLE e THOMAS, 2005).

Segundo Smith et al. (2015) a ecocardiografia é o exame não invasivo, padrão-ouro, para o diagnóstico de doenças cardiovasculares. Atualmente, considera-se a ecocardiografia como exame que fornece ao clínico o diagnóstico definitivo da Degeneração Valvar Crônica de Mitral (DVCM) (CHAMAS, 2011). A ecocardiografia com estudo doppler permite avaliar a presença e intensidade da regurgitação, assim como sua localização no átrio esquerdo, permitindo identificar a existência e a severidade das valvopatias e suas consequências hemodinâmicas (MOISE e FOX, 1999; BOON, 2011).

O exame ecocardiográfico geralmente começa com a avaliação bidimensional (modo-B), a qual permite uma avaliação mais abrangente da anatomia e relações espaciais cardíacas e de grandes vasos (BOON, 2011). Outras modalidades de imagem, como modo de movimento (modo-M) e ecocardiografia Doppler são guiadas pela imagem bidimensional e realizadas simultaneamente (MANNION, 2006).

A ecocardiografia em modo-M é uma técnica unidimensional que emprega um feixe estreito, parecido com uma agulha, que é conduzido manualmente, para obtenção de imagens de estruturas importantes. A principal utilidade deste modo é a mensuração dos diâmetros das câmaras cardíacas e espessuras de suas paredes, da movimentação da parede, das dimensões dos grandes vasos e da movimentação valvar (BONAGURA, 1983; RISHNIW e HOLLIS, 2000).

A ecocardiografia Doppler utiliza mudanças na frequência de um feixe de ultrassom que ocorre quando esse é refletido a partir do movimento dos elementos celulares sanguíneos para medir a velocidade do fluxo sanguíneo, o qual, através de um registro gráfico, permite uma avaliação não invasiva de tempo, direção e característica do fluxo sanguíneo dentro do coração e dos grandes vasos (MOISE e FOX, 1999).

Segundo Lester et al. (2008), a disfunção diastólica se caracteriza pela presença de alterações miocárdicas durante a diástole e não resulta, necessariamente, em informações sobre o status clínico do paciente. A função diastólica envolve diversos fatores que interagem entre si, como o relaxamento miocárdico, contração atrial, fases de enchimento ventricular rápido e lento, pericárdio e propriedades elásticas do coração (BOON, 2011). As principais consequências da perda na função diastólica são: prolongamento do tempo de relaxamento miocárdico e desuniformidade no relaxamento, redução da elasticidade ventricular, aumento da resistência e pressão durante enchimento ventricular diastólico (FAGGIANO et al., 1995). Segundo Ommenn (2000), a avaliação da função diastólica através da associação das variáveis obtidas por meio do estudo do fluxo transmitral e do doppler tecidual tem se mostrado semelhante à avaliação por técnicas invasivas.

Kierberger et al. (1992) avaliaram a influência da raça, idade, sexo, frequência cardíaca e peso corpóreo nas variáveis ecocardiográficas de fluxo sanguíneo em cães e observaram que: com aumento do peso corpóreo diminui a velocidade do fluxo transvalvar esquerdo e de fluxo pulmonar; o aumento da frequência cardíaca leva a um aumento da velocidade de fluxo atrioventricular esquerdo e de fluxo pulmonar e à diminuição do tempo de enchimento diastólico; machos apresentam velocidades de fluxo maiores do que fêmeas; a velocidade de fluxo atrioventricular direito é maior nos pastores alemães do que nos Beagles, o que evidencia a necessidade de estudos raça-específicos.

Morrison et al. (1992) investigaram a influência da raça e peso corporal nas variáveis ecocardiográficas. Neste estudo foram avaliados e comparados, estatisticamente, parâmetros ecocardiográficos de 80 cães, clinicamente normais, de quatro raças morfologicamente variadas (Afgan Hound, Golden Retriever, Pembroke Welsh Corgi e Poodle miniatura), constatando-se diferença significativa para a média dos parâmetros dimensão da cavidade do ventrículo esquerdo, espessura do septo interventricular, espessura da parede livre do ventrículo esquerdo, distância do septo ao ponto E, dimensão da raiz da aorta no final da diástole, dimensão do átrio esquerdo e fração de encurtamento, entre as raças e entre cães de pesos diferentes. Estes achados ressaltam a importância de pesquisas específicas para cada raça canina, para estabelecer os valores ecocardiográficos de referência, visto que a interpretação dos resultados, utilizando valores de referência indevidos, pode levar a erros de avaliação e, conseqüentemente, falha no diagnóstico das doenças cardíacas.

Crippa et al. (1992) avaliaram os parâmetros ecocardiográficos em 50 cães da raça Beagle, saudáveis, machos e fêmeas, encontrando diferença significativa para a medida da parede livre do ventrículo esquerdo, a qual mostrava-se mais espessa nos machos em relação às fêmeas. O diâmetro interno do ventrículo esquerdo apresentou correlação positiva com o peso destes cães, porém os outros parâmetros não se correlacionaram com esta variável.

Page et al. (1993) avaliaram os parâmetros ecocardiográficos em 16 cães da raça Greyhound e compararam os valores ecocardiográficos com outras raças de tamanho e peso corporal similar, encontrando, no referido estudo, valores consensualmente maiores para posterior do ventrículo esquerdo (PPVE), tanto em sístole quanto diástole.

Snyder et al. (1995) avaliaram os parâmetros ecocardiográficos em cães da raça Greyhound e comparou estes resultados com outras raças, encontrando diferença significativa na média dos valores da cavidade do ventrículo esquerdo, parede livre do ventrículo esquerdo, intervalo de tempo sistólico e fração de encurtamento. Neste estudo, os autores evidenciam que, mesmo com a indexação dos valores para área de superfície corporal e peso corporal, as diferenças observadas permaneceram, sugerindo que tanto raça, quanto conformação corporal, devem ser considerados na interpretação de estudos ecocardiográficos em cães.

Vollmar (1999) estudou 262 cães da raça Wolfhound Irlandês para obtenção dos valores de referência para a raça e sua correlação com idade, sexo e peso corpóreo. Neste estudo diversos parâmetros ecocardiográficos apresentavam correlação linear significativa com peso corporal e idade. O sexo dos animais não exerceu influência sobre os valores ecocardiográficos.

Della Torre et al. (2000) utilizaram 60 cães do grupo de raças dos galgos (Greyhound, Greyhound Italiano e Whippet) para investigar a influência das medidas corpóreas sobre os valores ecocardiográficos em cães de portes diferentes, mas de conformação somatotípica similar. Foi identificada alta correlação entre os valores ecocardiográficos e as medidas corpóreas, principalmente a área de superfície corpórea. Este estudo ainda enfatiza que a relação entre as mensurações ecocardiográficas e a área de superfície corpórea são mais similares para cães de somatotipo idêntico do que naquelas com tamanhos e conformação corporal diferentes.

Muzzi et al. (2000) utilizaram os valores dos parâmetros ecocardiográficos obtidos de 60 cães da raça Pastor Alemão, clinicamente sadios, 31 machos e 29 fêmeas, com idade variando entre um e cinco anos, para padronização destas variáveis na raça citada. Os autores observaram que a relação espessura do septo interventricular e parede posterior, no final da diástole, relação diâmetro do átrio esquerdo e aorta, porcentagem de espessamento sistólico do septo interventricular, porcentagem de espessamento sistólico da parede posterior de ventrículo esquerdo e porcentagem de encurtamento sistólico do diâmetro ventricular esquerdo não se correlacionaram com o peso corporal, sexo ou idade.

Segundo Yamato (2001) em vista da grande diversidade de variáveis que influenciam os parâmetros e índices ecocardiográficos, é essencial que se estabeleçam os valores de referência para estes dados para cada raça de cães, enfatizando a importância da proposta de padronização de índices e valores ecocardiográficos em cães da raça Shih-Tzu, vigente neste estudo.

Tendo em vista ainda que as mensurações dos parâmetros ecocardiográficos podem variar conforme o peso corpóreo, superfície corpórea e conformação corpóreas, escore corporal de gordura, raça e idade (GOODING, 1986; CRIPPA,

1992; MORRISON, 1992; DELLA TORRE, 2000) justifica-se a coleta destes dados para posterior avaliação estatística e correlações como proposto nesta pesquisa.

Leary et al. (2003) avaliaram os parâmetros ecocardiográficos em 14 cães da raça English Bull Terrier, considerados saudáveis na auscultação e ao exame eletrocardiográfico, encontrando maior espessura da parede ventricular esquerda e diâmetros de raiz aórtica menores em relação aos parâmetros padronizados para outros cães de tamanho corporal comparável. Os autores ainda observaram velocidades de fluxo aórtico maiores do que as relatadas para outras raças, o que foi associado a um menor diâmetro aórtico ou outra anormalidade na via de saída do ventrículo esquerdo, e também, possivelmente, a uma hipertrofia ventricular esquerda “fisiológica”, específica da raça. Os autores enfatizam que a não utilização de parâmetros específicos para a raça pode resultar em diagnósticos imprecisos.

Yamato et al. (2006) avaliaram 30 cães, da raça Poodle, sendo 09 machos e 21 fêmeas com idades entre 2 a 7 anos ($3,87 \pm 1,55$) e peso corpóreo variando de 2,0 a 8,7 quilos ($4,49 \pm 1,38$) para padronização dos parâmetros ecocardiográficos, em modo M. Os autores concluíram que o peso possui correlação linear positiva e significativa em relação ao diâmetro do ventrículo esquerdo na diástole (DVE_d) e na sístole (DVE_s), à espessura do septo interventricular na diástole (SIV_d) e na sístole (SIV_s), à espessura da parede livre do ventrículo esquerdo na diástole (PVE_d) e na sístole (PVE_s), ao diâmetro da artéria aorta (Ao), ao diâmetro do átrio esquerdo (AE) e à distância entre o ponto E do folheto anterior da válvula mitral e o septo interventricular (dES). A altura também apresentou coeficientes de correlação positivos e significativos, em relação ao DVE na diástole e na sístole, à PVE na diástole e na sístole, à SIV na diástole e na sístole, à Ao e à dES. A idade do animal, por sua vez, não demonstrou correlação significativa, com o SIV_d, o SIV_s, a PVE_d, a PVE_s, o AE, Ao, a AE/Ao e a dES.

Bavegems et al. (2007) delinearão a padronização dos parâmetros ecocardiográficos em 105 cães da raça Wippet onde descobriram que esta raça apresenta diâmetro e parede do ventrículo esquerdo e septo interventricular significativamente maiores do que o esperado para o peso destes animais. Além disso, estes autores observaram que a fração de encurtamento era menor, comparada com outras raças de peso corporal semelhante e, ainda, observaram diferença para o tamanho da cavidade do ventrículo esquerdo, tanto em diástole, quanto em sístole,

entre machos e fêmeas, mesmo levando em consideração as diferenças de peso corporal entre os dois gêneros. Diante destes achados, os autores evidenciam a necessidade de estudos de padronização de valores ecocardiográficos específicos para cada raça.

Pellegrino et al. (2007) avaliaram 41 cães da raça Golden Retriever, clinicamente saudáveis, através da ecocardiografia visando padronização dos valores de referência, para este exame, na raça acima referida. Concluíram que o peso corpóreo tem influência positiva sobre a maioria dos parâmetros ecocardiográficos em modo M, mas não influencia a maior parte dos parâmetros da ecocardiografia Doppler. Além disso, os parâmetros ecocardiográficos são passíveis de variação dentro de uma mesma raça canina.

Silva et al. (2008) determinaram parâmetros ecocardiográficos de função ventricular esquerda em duas raças de somatotipos diferentes (Boxer e Schnauzer miniatura). Para tanto, foram utilizados 24 cães da raça Schnauzer Miniatura, com média de peso de $8,4 \pm 1,6$ kg, e 24 cães da raça Boxer, com média de peso de $25,1 \pm 2,6$ kg. Os valores do índice de performance do miocárdio, dos índices de fase de ejeção, do período de pré-ejeção, da relação período de pré-ejeção/período de ejeção e do tempo de desaceleração da onda E do fluxo mitral diferiram entre as duas raças.

Castro et al. (2011) realizaram um estudo para padronização dos parâmetros ecocardiográficos em cães da raça York-Shire Terrier, utilizando 30 cães adultos, machos e fêmeas, clinicamente saudáveis, com peso médio de $2,42 \pm 0,64$ kg e idades entre um e seis anos. O diâmetro do átrio esquerdo e da aorta, a dimensão interna do ventrículo esquerdo na diástole e na sístole, a espessura do septo interventricular na diástole e na sístole, e a espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole e na sístole correlacionaram-se com o peso corporal. As demais variáveis do modo-M não se correlacionaram com peso corporal, sexo ou idade. Os autores concluíram que os valores ecocardiográficos obtidos neste estudo podem ser utilizados como referência para cães dessa raça.

Jacobson et al. (2013) definiram os valores de referência para a raça Border Collie identificando, neste estudo, em comparação com outras publicações de padronização de parâmetros ecocardiográficos em raças similares que os valores de

DDVE em diástole e sístole foram maiores, parede septal do ventrículo esquerdo e fração de encurtamento menores.

Misbach et al. (2014) avaliaram o efeito do peso corporal, idade, gênero na formulação dos valores de referência ecocardiográficos em cães da raça Cavalier King Charles Spaniel. Neste estudo foi verificado que o um efeito significativo do peso corporal para todas as variáveis, exceto para relação átrio esquerdo aorta e relação onda E e onda A do fluxo transmitral.

Giraut et al. (2019) avaliaram os parâmetros ecocardiográficos específicos para raça Saluki, sendo verificado que o peso corporal foi um preditor significativo da avaliação de diâmetros ventriculares esquerdos, volumes ventriculares esquerdos e EPSS. As associações entre o peso corporal e as variáveis ecocardiográficas foram melhor descritas pelos modelos de regressão linear múltipla aplicados neste estudo, fornecendo valores de referência baseados no peso corporal, dentro raça citada.

Para raças específicas não é esperada uma variabilidade importante de tamanho e peso entre os animais, no entanto, o índice de massa corpórea (IMC) pode variar entre os indivíduos. Portanto, o mesmo padrão observado na espécie humana (ENGELI, 2003), na qual a obesidade altera os índices ecocardiográficos e está associada ao aumento da pressão arterial sistêmica, seria esperado nos caninos obesos. No entanto, a literatura é escassa em relação a estes efeitos na espécie canina, justificando o cálculo desta variável e sua correlação com os parâmetros ecocardiográficos proposto neste estudo.

1.3 JUSTIFICATIVA

Como citado, em diversos artigos descritos na revisão bibliográfica, uma das principais limitações do uso de parâmetros e índices ecocardiográficos é a variação entre as diferentes raças de cães. Tamanho, idade, gênero, peso e conformação corporal e do tórax podem influenciar significativamente nos parâmetros ecocardiográficos nesta espécie. O número de cães da raça Shih-tzu tem crescido significativamente nos últimos anos no Brasil, evidenciando assim a necessidade de estudos específicos para esta raça. Na cidade de Lages, Santa Catarina, em um levantamento de atendimentos de cães, realizado em um estabelecimento particular, observou-se que, em um período de um ano, foram atendidos 5678 cães, destes 1522 (26,8%) eram sem raça definida (SRD), 580 (10,23%) da raça York-Shire e 510 (9%) da raça Shih-tzu, evidenciando a ascensão regional desta raça (Dados Pessoais).

Some-se a isso o fato de não ter sido encontrada, nas bases de dados consultadas, publicações determinando os valores ecocardiográficos em cães da raça Shih-tzu.

1.4 HIPÓTESES

Os parâmetros ecocardiográficos em cães da raça Shih-tzu diferem significativamente em comparação a cães de peso corporal semelhante.

O peso corporal, IMCC, condição corporal, perímetria torácica, idade e gênero alteram significativamente as variáveis ecocardiográficas.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 OBJETIVOS GERAIS

- Determinar os parâmetros ecocardiográficos em cães da raça Shih-tzu;

1.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a influência do peso corporal, índice de massa corporal canino (IMCC), condição corporal, perimetria torácica, idade e gênero nos parâmetros ecocardiográficos em cães da raça Shih-tzu;

1.6 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi enviado para o Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) e aprovado sob o número de protocolo CEUA nº 3253240816. Os tutores dos animais foram esclarecidos sobre o estudo e assinaram o TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, autorizando a participação dos animais.

Foram utilizados 44 caninos adultos (≥ 12 meses), da raça Shih-tzu, machos e fêmeas, apresentando ou não sinais de doença cardíaca. Os animais foram submetidos a exame físico completo. Foram coletadas amostras de sangue para hemograma completo, hepático [alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA)] e renal [creatinina e ureia].

1.6.1 AFERIÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA

A pressão arterial sistólica (PAS) foi avaliada utilizando doppler vascular portátil (Doppler 841-A, Parks Medical Electronics®, Inc. Aloha, Oregon, USA), sendo que, o manguito utilizado, foi equivalente a aproximadamente 40% da circunferência do antebraço do membro torácico direito (MTD), o qual foi padronizado para as aferições. Foram realizadas cinco repetições das aferições, utilizando-se a média destes valores como resultado, conforme recomendado por Brown et al. (2007).

1.6.2 DETERMINAÇÃO DAS MEDIDAS CORPÓREAS E ESCORE CORPORAL

Foram realizadas as mensurações corpóreas de comprimento (da crista occipital à porção proximal da primeira vértebra coccígea) e o perímetro do tórax (medida da circunferência do tórax na altura da extremidade caudal da tuberosidade do olécrano), conforme descrito por Martins (2005). Para todas medidas foi utilizada fita métrica graduada em centímetros (cm) e milímetros (mm), de material não expansível.

A determinação do escore corporal foi realizada mesclando métodos qualitativos (LAFLAMME, 1997) e quantitativos (MULLER, 2008). Para todos os animais foram registrados o peso, o comprimento da coluna adicionado ao

comprimento dos membros pélvicos (altura) e o sexo. Na sequência, o animal foi classificado conforme à condição corporal, baseado na escala proposta por Laflamme (1997) (Tabela 1).

Tabela 1 - Graduação de condição corporal para caninos, proposta por LAFLAMME (1997).

Condição	Grau	Características
Subalimentado	1	Costelas, vértebras lombares, ossos pélvicos e todas as saliências ósseas visíveis à distância. Não há gordura corporal discernível. Perda evidente de massa muscular.
	2	Costelas, vértebras lombares e ossos pélvicos facilmente visíveis. Não há gordura palpável. Algumas outras saliências ósseas podem estar visíveis. Perda mínima de massa muscular.
	3	Costelas facilmente palpáveis podem estar visíveis sem gordura palpável. Visível o topo das vértebras lombares. Os ossos pélvicos começam a ficar visíveis. Cintura e reentrância abdominal evidentes.
Ideal	4	Costelas facilmente palpáveis com mínima cobertura de gordura. Vista de cima, a cintura é facilmente observada. Reentrância abdominal evidente.
	5	Costelas palpáveis sem excessiva cobertura de gordura. Abdome retraído quando visto de lado.
	6	Costelas palpáveis com leve excesso de cobertura de gordura. A cintura é visível quando vista de cima, mas não é acentuada. Reentrância abdominal aparente.
Superalimentado	7	Costelas palpáveis com dificuldade; intensa cobertura de gordura. Depósitos de gordura evidentes sobre a área lombar e base da cauda. Ausência de cintura ou apenas visível. A reentrância abdominal pode estar presente.
	8	Impossível palpar as costelas situadas sob cobertura de gordura muito densa ou costelas palpáveis somente com pressão acentuada. Pesados depósitos de gordura sobre a área lombar e base da cauda. Cintura inexistente. Não há reentrância abdominal. Poderá existir distensão abdominal evidente.
	9	Maciços depósitos de gordura sobre o tórax, espinha e base da cauda. Depósitos de gordura no pescoço e membros. Distensão abdominal evidente.

A mensuração da estatura do cão, para obtenção da altura, utilizada na fórmula do IMC humano, foi realizada com uma fita métrica flexível, graduada em centímetros. Os pontos de referência considerados foram a extensão entre a base da nuca (articulação atlanto-occipital) e o solo imediatamente atrás dos membros posteriores, passando e apoiando a fita sobre a base da cauda (última vértebra sacral), ficando a fita exatamente medial às tuberosidades ilíacas, sobre o dorso do animal (MULLER,

2008). Para a aferição do peso, foi utilizada uma balança digital com capacidade de até 100 quilos. Depois de obtidos os dados, foi aplicada a equação aritmética a partir do índice de massa corporal humano: Índice de Massa Corporal Canino (IMCC) = peso corporal (kg) / (estatura em m) ².

1.6.3 ECOCARDIOGRAFIA

Os exames ecocardiográficos foram realizados utilizando-se dois aparelhos para ecocardiografia (HD15 Ultrasound System Philips® Healthcare e Ultramedic 9V), com transdutor de varredura setorial multifrequencial de 2-5 Hz, realizando-se as avaliações nos modos bidimensional (B), unidimensional (M), doppler pulsado (PW) e contínuo (CW) e por mapeamento de fluxo em cores (CFM), sendo os dados e imagens armazenados na memória do aparelho para posterior mensuração e cálculos. Todos os exames foram realizados pelo mesmo avaliador.

Foi realizada tricotomia nas regiões do hemitórax direito e esquerdo e aplicado gel aderente para melhorar a condução das ondas de ultrassom. Com o animal em decúbito lateral direito, sobre mesa de madeira, com recorte possibilitando melhor posicionamento do transdutor nas janelas ecocardiográficas, posicionando-se este na janela paraesternal direita, localizada entre os 3º e 6º espaços intercostais (EIC) direitos, entre o esterno e a articulação costo-condral, foram obtidas as imagens do eixo-longo e do eixo-curto e realizadas as medidas ecocardiográficas. A partir do eixo-longo foram obtidas as visões quatro-câmaras e via de saída do ventrículo esquerdo, e, quando no eixo-curto, foram observados os cortes nos níveis apical, papilar, cordal, mitral e aórtico.

As imagens foram inicialmente obtidas em modo-B, avaliando-se as relações anatômicas entre as estruturas, a contratilidade, os aspectos morfofuncionais valvares, a presença de jatos de regurgitação com o doppler colorido e o gradiente de pressão da válvula pulmonar, utilizando o doppler pulsátil. Ainda no modo-B foram realizadas as medições de átrio esquerdo (AE) e aorta (Ao), no eixo transversal, plano dos vasos da base, e calculada a relação átrio esquerdo/aorta (AE:Ao).

O eixo curto serviu de orientação para a obtenção das imagens em modo-M, com exposição simultânea do modo bidimensional na tela. As variáveis ecocardiográficas analisadas incluíram: diâmetro interno do ventrículo esquerdo

(DIVE), espessura do septo interventricular (SIV) e espessura da parede livre do ventrículo esquerdo (PPVE), sendo todas as referidas variáveis verificadas no fim da diástole (d) e no fim da sístole (s). As variáveis foram mensuradas com base em imagens ecocardiográficas obtidas através do modo-M da janela parasternal direita, em seu eixo transversal, no plano das cordas tendíneas, sendo considerado como valor final a média de três ciclos cardíacos. A partir destas medidas foram calculados os índices funcionais, como a fração de encurtamento (FS), conforme descritos por Bonagura (1983). Neste mesmo corte, no plano da válvula mitral foi mensurada a distância do septo interventricular ao ponto E do folheto anterior da válvula mitral (EPSS).

Pela janela paraesternal caudal esquerda (apical), em modo bidimensional, foram avaliadas as relações anatômicas entre as estruturas cardíacas, os aspectos morfofuncionais valvares, a contratilidade miocárdica e foi calculado o gradiente de pressão da válvula aórtica. O volume sistólico final (VSF) e volume diastólico final (VDF), volume sistólico (VS), a fração de ejeção pelo modo-B (FE) e o débito cardíaco (DC) foram calculados pelo método de Simpson modificado, assim como descritos por Schiller (1989).

No corte quatro câmaras, avalia-se, de forma subjetiva, o tamanho de câmaras cardíacas em modo-B. O Doppler colorido é posicionado na válvula mitral e tricúspide para avaliar a presença de refluxo ou fluxo turbulento. O Doppler espectral é posicionado logo após a saída da válvula mitral para avaliar a velocidade do fluxo sanguíneo. O resultado são duas ondas positivas, sendo a primeira onda (onda E), de maior amplitude, que indica o enchimento rápido do VE; e a segunda onda (onda A), de menor amplitude, corresponde à contração atrial esquerda. A partir destes valores, calcula-se a razão da onda E com a onda A e o valor normal para este índice deve estar no intervalo de 1,04 a 2,42 (BOON, 2011).

No corte cinco câmaras, posiciona-se o Doppler colorido na válvula aórtica para visibilizar a presença de refluxo ou fluxo turbulento. Para avaliação do Doppler espectral posiciona-se a amostra do transdutor logo após a saída da válvula aórtica para avaliar a velocidade do fluxo aórtico. A onda formada será uma onda negativa com aceleração rápida e desaceleração mais lenta e seu valor não deve ultrapassar 2,5 m/s. Ao se posicionar a amostra do Doppler pulsado entre o fluxo aórtico e o fluxo mitral é possível obter o valor do tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV). Haverá

visualização de duas ondas positivas (E e A) e uma onda negativa (fluxo aórtico), porém todas com valores subestimados devido à localização da amostra medida da TRIV ser temporal, sendo realizada a partir do final da onda do fluxo aórtico até o início da onda E (SCHOBER e FUENTES, 2001a; BOON, 2011).

Os animais que apresentaram alterações ecocardiográficas compatíveis com patologias cardíacas foram excluídos do estudo.

1.6.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram tomados os resultados de três medidas para cada parâmetro ecocardiográfico. Na sequência os parâmetros foram submetidos a análise estatística descritiva para cálculo da média aritmética, mediana e os valores médios, mínimo e máximo, de cada parâmetro, considerando-se todos os cães avaliados, com exceção daqueles que tinham alterações na avaliação ecocardiográfica.

Os parâmetros ecocardiográficos também foram comparados de forma descritiva com os valores de normalidade para a população canina em geral.

A amostra mínima necessária para validar o estudo dos parâmetros ecocardiográficos, no presente estudo, foi calculada baseada no desvio padrão médio encontrado em um estudo similar em outra raça (MISBACH et al., 2014), com nível de significância de 95%, conforme descrito por Campos (2017).

Foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar se os dados possuíam distribuição normal e posteriormente a análise de variância. Os limites superior e inferior dos intervalos de referência, com níveis de confiança 90%, foram determinados na população global usando uma abordagem não paramétrica (Shapiro-Wilk). Utilizou-se um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Foi realizado teste de correlação de Pearson para verificar correlação entre os parâmetros ecocardiográficos (Ao, AE, AE/Ao, DVDId, SIVd, DIVEd, PPVEd) e parâmetros biométricos (Peso corporal, IMCC, Perimetria tórax, Altura). O coeficiente de correlação (r) foi avaliado segundo Callegari-Jacques (2003) em que: r entre 0 e 0,3 fraca correlação; 0,31 e 0,6 moderada; 0,61 e 0,9 forte e 0,91 a 1,0 muito forte.

Foi avaliada a influência das diferentes faixas de idade (1-3 anos, 4-7 anos, 8-12 anos) nos parâmetros associados à função diastólica (onda E, onda A, TRIV, relação E/TRIV). Para onda E e relação E/TRIV, os quais não apresentaram distribuição não paramétrica, foi utilizado o teste Kruskal-Wallis. Para onda A, E/A e TRIV, que apresentaram distribuição paramétrica, foi utilizado o teste ANOVA.

Para verificar impacto do sexo nos parâmetros e índices ecocardiográficos foi utilizado o teste T para as variáveis que apresentaram distribuição paramétrica e teste Mann-Whitney para os valores que foi verificada distribuição não paramétrica.

1.7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados 44 animais, entre um e 14 anos, com peso corporal de 3,1 a 9,4 kg ($5,7 \pm 1,6$), altura de 45 a 73 cm, sendo 24 machos e 20 fêmeas (Tabela 2). Todos os cães selecionados para o presente estudo demonstraram bom comportamento e tolerância adequada à manipulação e para a contenção física necessárias para a realização dos procedimentos. Os animais selecionados eram provenientes da rotina clínica do Hospital de Clínica Veterinária da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) e da Clínica Cães e Gatos, ambos localizados na cidade de Lages – Santa Catarina. A frequência cardíaca e a frequência respiratória oscilaram significativamente durante o decorrer dos exames ecocardiográficos. Cinco animais (5/44 – 11%) foram excluídos da avaliação de padronização de parâmetros e valores ecocardiográficos, por apresentarem alterações compatíveis com doença valvar mitral, considerada fator de exclusão no presente estudo.

Imagens de qualidade satisfatória foram obtidas, em todos os cães avaliados, a partir das janelas acústicas preconizadas. Foi possível avaliar o posicionamento e movimentação das paredes, câmaras, valvas e grandes vasos, bem como compreender a relação entre estas estruturas (Figuras 1 e 2). Todos os animais apresentavam morfologia normal das válvulas mitral e tricúspide.

Figura 1 - Imagem ultrassonográfica do coração de cão da raça Shih-tzu, em modo B. A: corte paraesternal longitudinal direito (via de saída do ventrículo esquerdo): B: corte paraesternal esquerdo apical 4 câmaras. VE = ventrículo esquerdo, VD = ventrículo direito, AO = aorta, AE = átrio esquerdo. Valva atrioventricular esquerda (mitral) = seta branca. Valva atrioventricular direita (tricúspide) = seta azul.

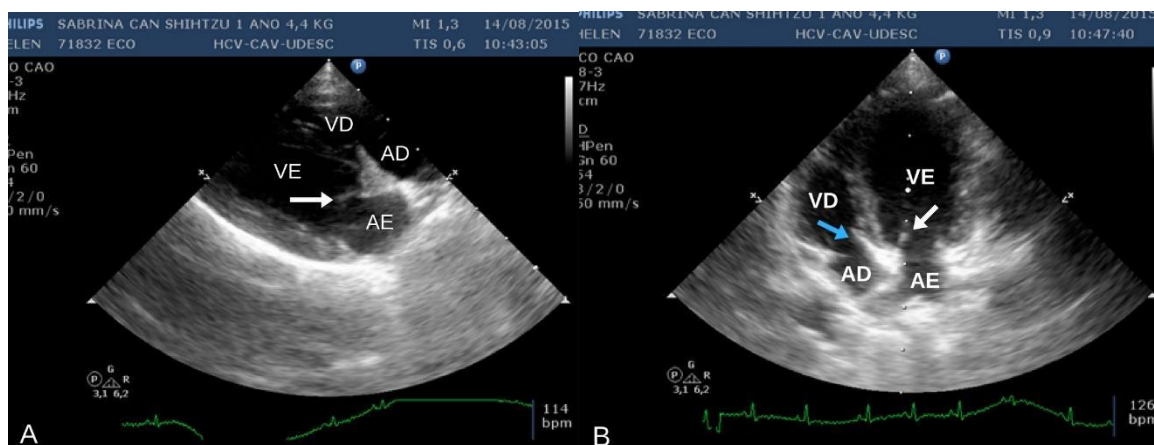
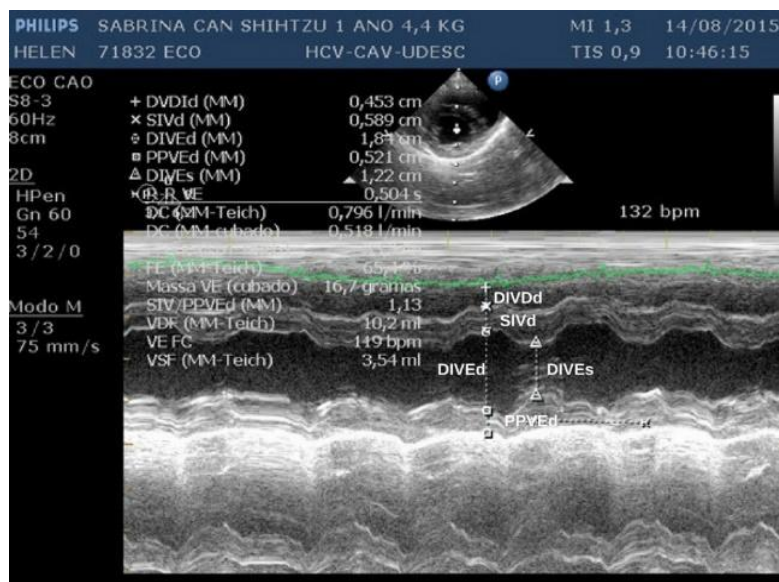


Figura 2 - Imagem ultrassonográfica do coração de cão da raça Shih-tzu, em modo M, corte paraesternal transversal direito, na altura dos músculos papilares, mostrando os ventrículos direito e esquerdo, em vários ciclos cardíacos, a mensuração das suas estruturas e índices funcionais do ventrículo esquerdo. DVDId* = dimensão interna do ventrículo direito na diástole; SIVd* = espessura do septo interventricular na diástole; DIVEd* = dimensão interna do ventrículo esquerdo na diástole; PPVEd* = espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole; DIVEs* = dimensão interna do ventrículo esquerdo na sístole.



O bom temperamento dos cães da raça Shih-tzu e conformação do tórax permitiram detectar janelas acústicas adequadas, sendo possível a realização de todos os exames ecocardiográficos sem utilização de contenção química. Esta vivência nos permitiu confirmar as vantagens da utilização do exame ecocardiográfico na rotina clínica de pequenos animais, como forma de diagnóstico de afecções cardíacas utilizando técnica não invasiva, indolor, e tolerável pelos cães.

O número de cães da raça Shih-tzu tem crescido significativamente nos últimos anos no Brasil, evidenciando assim a necessidade de estudos específicos para esta raça. Ainda neste contexto, Sefass et al. (2006) avaliaram a prevalência de sopro sistólico apical esquerdo, cuja principal causa em cães é a doença valvar crônica de mitral, em diversas raças caninas, e verificam que há maior predisposição nas raças Poodle, Dachshund e Shih Tzu, entre as raças investigadas, o que reforça a necessidade de estudos específicos para a raça Shih-Tzu.

A ecocardiografia em modo B e em modo M, combinada com exame convencional Doppler, desempenha um papel crítico no processo inicial e longitudinal da avaliação de cães afetados pela doença valvar crônica de mitral, fornecendo informações sobre a anatomia da valva mitral, gravidade da regurgitação mitral e suas

consequências hemodinâmicas no tamanho e função do coração esquerdo, bem como pressões cardíacas e vasculares (CHETBOUL e TISSIER, 2012). Tendo em vista estes aspectos, acima citados, enfatiza-se a importância da padronização de valores ecocardiográficos em cães com pré-disposição para esta patologia, como realizado no presente estudo, para cães da raça Shih-tzu.

A tabela 2 descreve os dados demográficos gerais, parâmetros dimensionais externos e pressão arterial. A média da pressão arterial sistólica nos cães avaliados no presente estudo foi de 140mmHG \pm 15mmHG. A média de altura dos cães avaliados foi de 0,58m \pm 0,06. A média da perímetria torácica foi de 40,5cm \pm 4,9 (Tabela 2). Em relação a condição corporal, um animal apresentou condição corporal 3, 11 animais condição corporal 4, 12 cães condição corporal 5, 10 animais como condição corporal 6, dois animais como condição corporal 7, 3 animais como condição corporal 8 (Tabela 2). Baseado nesta análise, foi verificado que 84% (33/39) dos cães avaliados apresentavam estado corporal considerado normal. O índice de massa corpórea canino (IMCC) variou de 10,4 a 29,6, apresentando média de 17,21 \pm 4,55 (Tabela 2).

Os valores médios de pressão arterial sistólica apresentam uma ampla variedade de valores em diversos estudos (BROWN et al., 2000; SALLA et al. 2014; Vachon et al., 2014). Segundo Palacio et al. (2012) a pressão arterial é fortemente influenciada pelo grau de estresse dos pacientes, o que justifica tamanha variabilidade de resultados entre os estudos. No presente trabalho, os animais não passavam por um período de ambientação antes dos exames, assim como acontece na rotina clínica, o que pode justificar alguns valores de pressão arterial acima da média preconizada pela literatura. É importante enfatizar que, apesar da presença de valores acima da média, nenhum animal apresentou alterações ecocardiográficas que pudessem indicar um aumento crônico e persistente nos valores de PAS, sugerindo que, de fato, estes valores aumentados estavam relacionados a alterações mediadas por estresse agudo, como citam Acierno e Labato (2004).

Tabela 2 - Avaliação de peso corporal (Kg), condição corporal, conforme escore adaptado de Laflamme (1997), perimetria torácica (cm), altura (m), índice de massa corpórea canino (IMCC), pressão arterial sistólica (PAS) (mmHG), idade e sexo de cães da raça Shih-Tzu.

ANIMAL	PESO CORPORA L (Kg)	IMCC	CONDIÇÃO CORPÓRA L	PERIMETRIA TORÁCICA (cm)	ALTURA (m)	PAS (mmHG)	IDADE (ANOS)	SEXO
1	4,4	11,82	5	41	0,61	155	1	F
2	4,7	14,99	5	36	0,56	135	1	F
3	4,9	15,08	4	35	0,57	140	1	F
4	4	18,9	4	35	0,46	130	1	F
5	5,1	12,07	4	39	0,65	140	1	M
6	3,1	11,46	3	31	0,52	135	1	M
7	6,5	19,32	5	41	0,58	140	1	M
8	5,5	17,54	6	39	0,56	170	2	F
9	4	15,38	4	35	0,51	140	2	F
10	5,6	14,57	5	39	0,62	150	2	M
11	4,7	12,23	5	39	0,62	150	2	M
12	5,4	16,33	5	39,5	0,58	140	2	M
13	5,8	14,61	5	39	0,63	155	2	M
14	7	24,01	6	47	0,54	145	2	M
15	4	10,41	4	36	0,62	135	3	F
16	4,3	12,78	5	36	0,58	135	3	M
17	9,4	18,13	8	49	0,72	140	4	M
18	4,7	22,21	4	38	0,46	165	4	M
19	8,7	21,92	6	50	0,63	140	5	F
20	7,1	20,4	6	40	0,59	135	5	M
21	4,8	15,87	4	37	0,55	145	7	F
22	6	15,61	6	42	0,62	150	7	F
23	8,9	23,15	7	50	0,62	140	7	F
24	6,2	19,08	6	41	0,57	170	7	F
25	4,4	16,92	4	38	0,51	130	7	M
26	5,5	18,18	5	36	0,55	145	8	F
27	8,2	15,39	5	44	0,73	135	8	M
28	3,8	14,05	4	38	0,52	120	8	M
29	7,3	22,47	6	45	0,57	140	8	M
30	5	12,6	5	42	0,63	150	10	F
31	6	29,63	7	41	0,45	150	10	F
32	6,1	15,87	6	43	0,62	144	10	F
33	8,3	23,06	8	52	0,6	120	10	M
34	6,1	18,78	6	43	0,57	120	11	F
35	4,9	14,57	4	39	0,58	100	12	F
36	8,4	27,77	8	50	0,55	150	12	F
37	6	18,47	4	38	0,57	120	14	M
38	3,45	10,62	6	34	0,57	110	2	F
39	5,9	14,87	5	43	0,63	160	7	M
Media±DP	5,7±1,6	17,21±4,55	5,3±1,2	40,5±4,9	0,58±0,06	140±15	5,4±3,8	-

Variabilidade para diversos parâmetros ecocardiográficos entre raças com peso corporal semelhante foram identificadas em diversos estudos em cães (KIERBERGER et al., 1992; MORRISON et al. 1992; SNYDER et al., 1995). A interpretação dos resultados, utilizando valores de referência indevidos, pode levar a erros de interpretação e, conseqüentemente, falhas no diagnóstico das doenças cardíacas.

Os valores de média, desvio-padrão, mediana e coeficientes de variação referentes aos parâmetros obtidos em modo B, modo M e em modo Doppler estão sumarizados na Tabela 3. Os parâmetros e índices ecocardiográficos encontrados neste estudo não foram comparados estatisticamente com as diversas pesquisas similares, realizadas em outras raças, que serão listadas abaixo, pois entende-se que o estudo estatístico não é válido nesta ocasião, tendo em vista que variações referentes à metodologia e ao equipamento podem influenciar de maneira significativa nestes resultados.

Tabela 3 - Valores dos parâmetros e índices ecocardiográficos em modo B, modo M e modo doppler, em cães da raça Shih-Tzu.

	Mínimo	Máximo	Percentil 25%	Mediana	Percentil 75%	Média	Desvio Padrão
EPSS(cm) ^a	0,18	0,51	0,24	0,28	0,34	0,30	0,08
Ao(cm) ^a	0,99	1,86	1,40	1,48	1,54	1,49	0,15
AE(cm)	1,39	2,10	1,67	1,75	1,91	1,77	0,18
AE/Ao	0,93	1,46	1,12	1,18	1,30	1,20	0,13
DVDId	0,23	0,77	0,40	0,45	0,51	0,47	0,13
SIVd	0,22	0,88	0,58	0,67	0,77	0,67	0,14
DIVEd	1,65	2,87	2,01	2,18	2,44	2,23	0,32
PPVEd	0,50	0,88	0,56	0,62	0,69	0,64	0,10
DIVEs ^a	1,03	2,18	1,22	1,29	1,43	1,36	0,22
VDF(ml)	7,82	31,30	12,98	15,99	20,98	17,40	6,08
VSF(ml) ^a	2,21	9,90	3,53	3,96	5,32	4,56	1,71
SIV/PPVEd	0,32	1,50	0,91	1,08	1,19	1,07	0,24
FEt%	52,4	85,4	67,38	72,60	78,73	72,67	8,42
FS%	24,7	52,8	34,39	39,0	45,4	39,87	7,45
DC (l)	0,35	1,52	0,67	0,82	0,98	0,86	0,25
VS (ml) ^a	3,89	10,80	4,86	6,18	7,91	6,54	2,01
FEs%	46,00	80,30	54,75	63,30	69,70	62,82	8,40
Vmax VA (cm/s)	71,60	163,0	94,43	107,7	112,5	106,2	17,48
GP max VA	2,05	10,60	3,57	4,77	5,09	4,71	1,58
Vmax VP (cm/s)	42,50	116,0	69,98	79,45	83,83	78,57	15,50
GP MAX VP	0,72	5,35	1,97	2,52	2,81	2,57	1,01
Onda E (m/s) ^a	0,54	1,58	0,71	0,78	0,89	0,82	0,19

Onda A (m/s)	0,44	0,86	0,53	0,63	0,74	0,64	0,12
E/A	0,76	2,13	1,14	1,24	1,45	1,31	0,30
TRIV (ms)	45,00	85,00	54,00	58,00	67,00	60,18	9,27
E/TRIV ^a	0,74	3,51	1,06	1,40	1,59	1,42	0,49

DVDId* = dimensão interna do ventrículo direito na diástole; SIVd* = espessura do septo interventricular na diástole; DIVEd* = dimensão interna do ventrículo esquerdo na diástole; PPVEd* = espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole; DIVEs* = dimensão interna do ventrículo esquerdo na sístole; FEt*% = fração de ejeção, obtida pelo método de Teichholz; FS% = fração de encurtamento; SIVd/PPVEd = relação espessura do septo interventricular e da parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole; EPSS* = distância entre o ponto E do folheto anterior da válvula mitral e o septo interventricular. *Obtidos em modo M, janela paraesternal direita, eixo curto. VDF= volume diastólico final (ml); VSF= volume sistólico final (ml); DC** = débito cardíaco (l/min); FES** = fração de ejeção (%); VS**= volume sistólico (ml); **= obtidos pelo método de Simpsons modificado. Vmax Ao = velocidade de pico sistólico máximo de fluxo aórtico (cm/s); GP max AO = gradiente de pressão- fluxo aórtico (mm de Hg); velocidade de pico sistólico máximo do fluxo artéria pulmonar (Vmax PA), cm/s mensurados pela ecocardiografia; GP max PA = gradiente de pressão- fluxo artéria pulmonar (mm de Hg). Onda E = pico de velocidade de enchimento ventricular inicial; Onda A = pico de velocidade de enchimento ventricular tardio; TRIV = tempo de relaxamento isovolumétrico; ^a= parâmetros que não apresentaram distribuição normal.

Dentre os parâmetros dimensionais (EPSS, Ao, AE, AE/Ao, DVDId, SIVd, DIVEd, PPVEd, DIVEs) e cálculos derivados destes (VSF, VDF, SIV/PPVEd, FS, FEt) descritos acima, somente os valores de EPSS, Ao e DIVEs não apresentaram distribuição normal. Os gráficos de distribuição de frequência (histogramas) para os parâmetros que não apresentaram distribuição normal, estão descritos na Figura 3 e os histogramas referentes aos parâmetros e índices com distribuição normal estão dispostos na Figura 4.

Figura 3 - Gráfico de distribuição de frequência (histograma) dos parâmetros ecocardiográficos DIVEs, EPSS, Ao e VSF, cuja análise pelo teste Shapiro-Wilk não demonstrou distribuição normal, em cães da raça Shih-tzu.

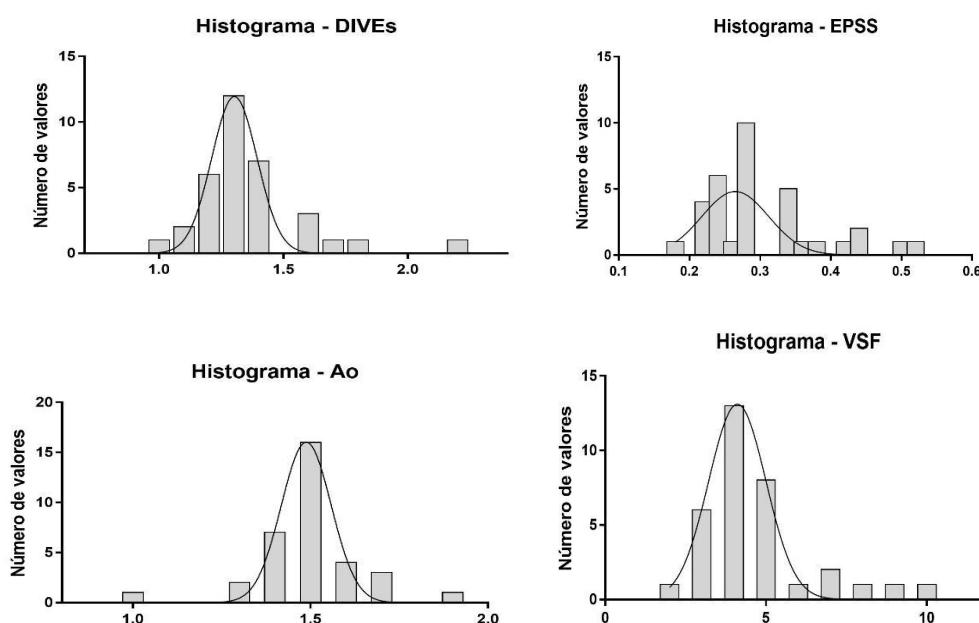
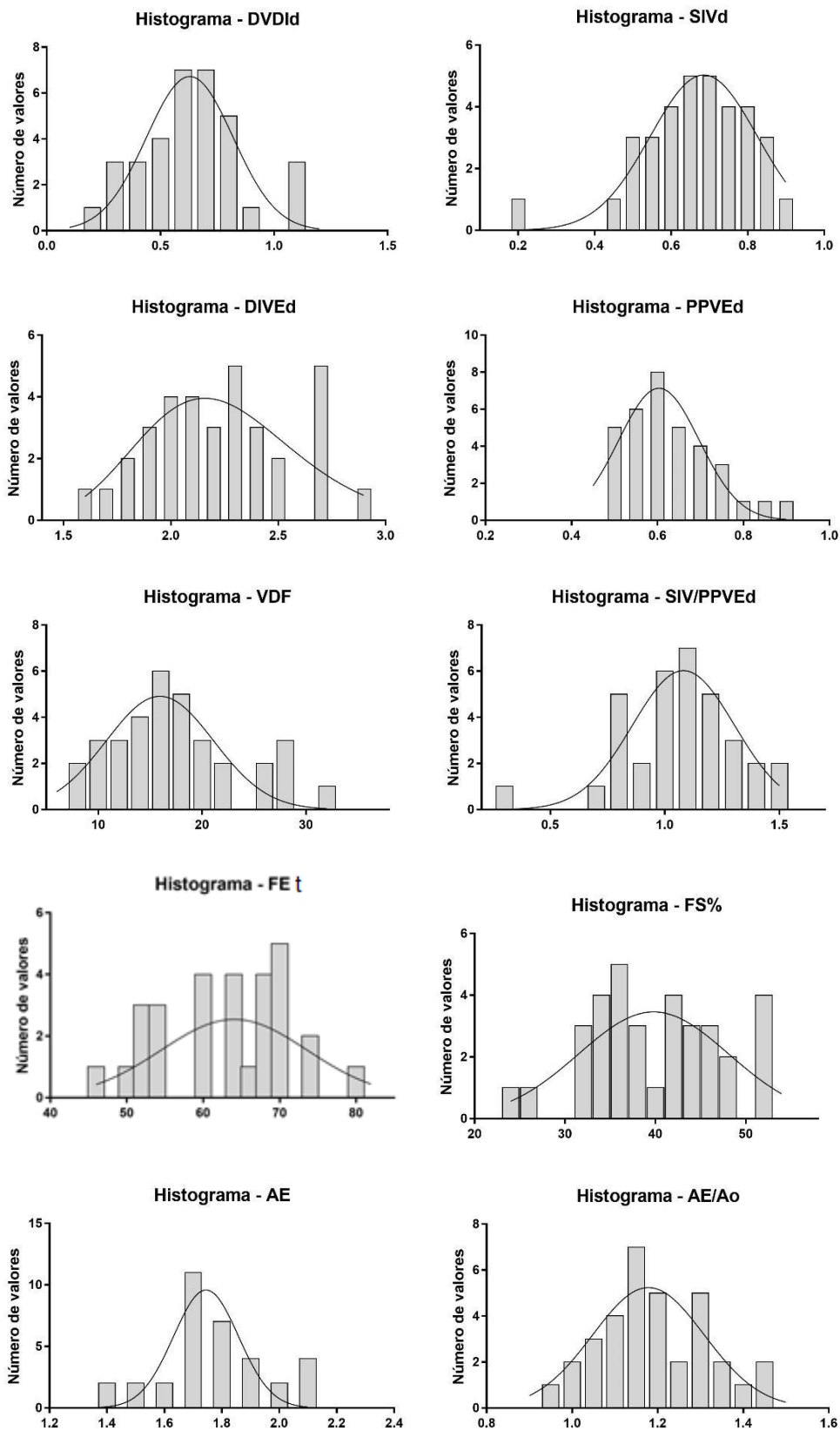


Figura 4 - Gráficos de distribuição de frequências (histogramas) dos parâmetros ecocardiográficos dimensionais (AE, AE/Ao, DVDId, SIVd, DIVEd, PPVEd) e cálculos derivados (VDF, SIV/PPVEd, FS, FEt) cuja análise pelo teste Shapiro-Wilk demonstrou distribuição normal, em cães da raça Shih-tzu.



Ao comparar os parâmetros obtidos em modo M, no presente estudo, com os valores obtidos por modelos polinomiais e logarítmicos, utilizados para prever referências de valores ecocardiográficos, através de fórmulas que utilizam o peso corporal (GONÇALVES et al., 2002), foram identificadas divergências para os valores mínimos do SIVd, DIVEd e PPVEd. Para o DIVEs, tanto o valor mínimo quanto o máximo divergiram dos parâmetros de referência propostos pelos autores acima. Estes dados sugerem que, para a raça Shih-tzu, não é interessante utilizar os modelos matemáticos propostos acima para avaliar a normalidade dos parâmetros ecocardiográficos supracitados.

Comparando os valores de modo M com os obtidos por Morrison et al. (1992), para cães da raça Poodle, com faixa de peso semelhante aos obtidos no presente estudo, foram observadas divergências para os parâmetros de DIVEs, EPSS, SIVd, PPVEd e FS. Já comparando com outro estudo semelhante (HALL et al., 2008) também em Poodles, de faixa de peso similar, observou-se diferença para os valores de SIVd, PPVEd, DIVEd, DIVEs e FS. Estes achados ressaltam que o peso corporal, isoladamente, tem um impacto variável nos parâmetros ecocardiográficos. Hall et al. (2008) ainda afirmam que o peso corporal influencia menos nos parâmetros ecocardiográficos do que as variações entre raças, corroborando com o fato acima citado.

Referente aos parâmetros obtidos pelo método de Simpson modificado (VS, DC, FEs), somente o VS não apresentou distribuição normal. Os gráficos de distribuição de frequência (histogramas) para os parâmetros que não apresentaram distribuição normal, estão descritos na Figura 3 e os histogramas referentes aos parâmetros e índices com distribuição normal estão dispostos nas Figura 5 e 6.

Figura 5 - Gráficos de distribuição de frequências (histogramas) dos parâmetros ecocardiográficos obtidos pelo método de Simpson modificado (DC, FE), cuja análise pelo teste Shapiro-Wilk demonstrou distribuição normal, em cães da raça Shih-tzu.

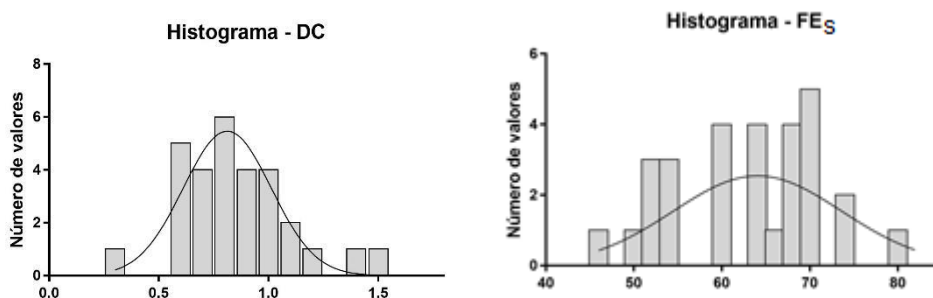
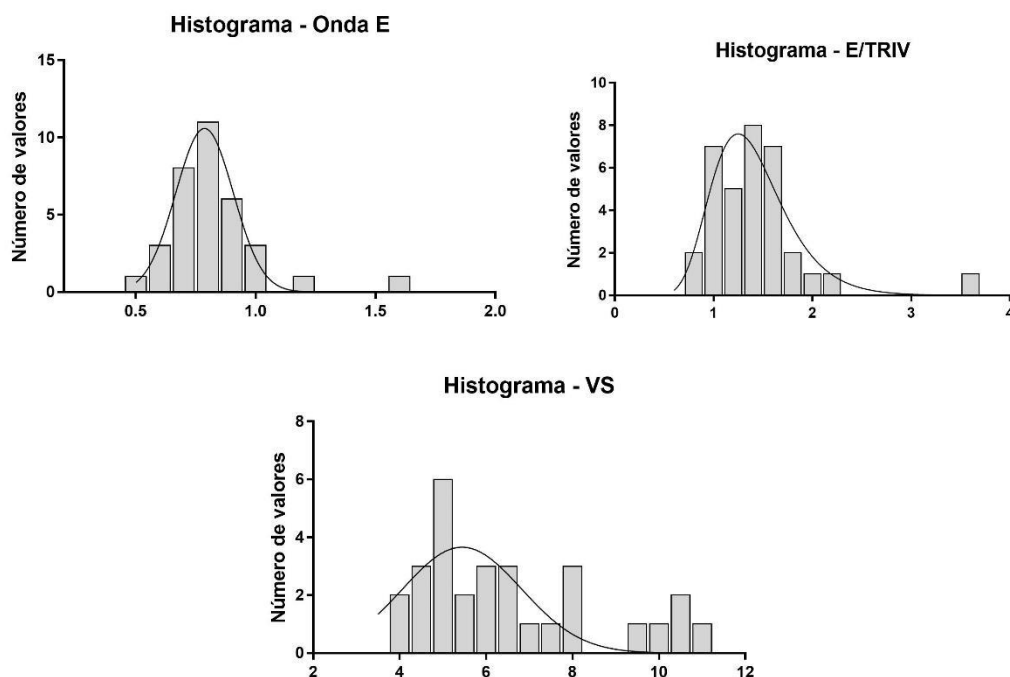


Figura 6 - Gráfico de distribuição de frequência (histograma) dos parâmetros ecocardiográficos onda E, E/TRIV e VS, cuja análise pelo teste Shapiro-Wilk não demonstrou distribuição normal, em cães da raça Shih-tzu.

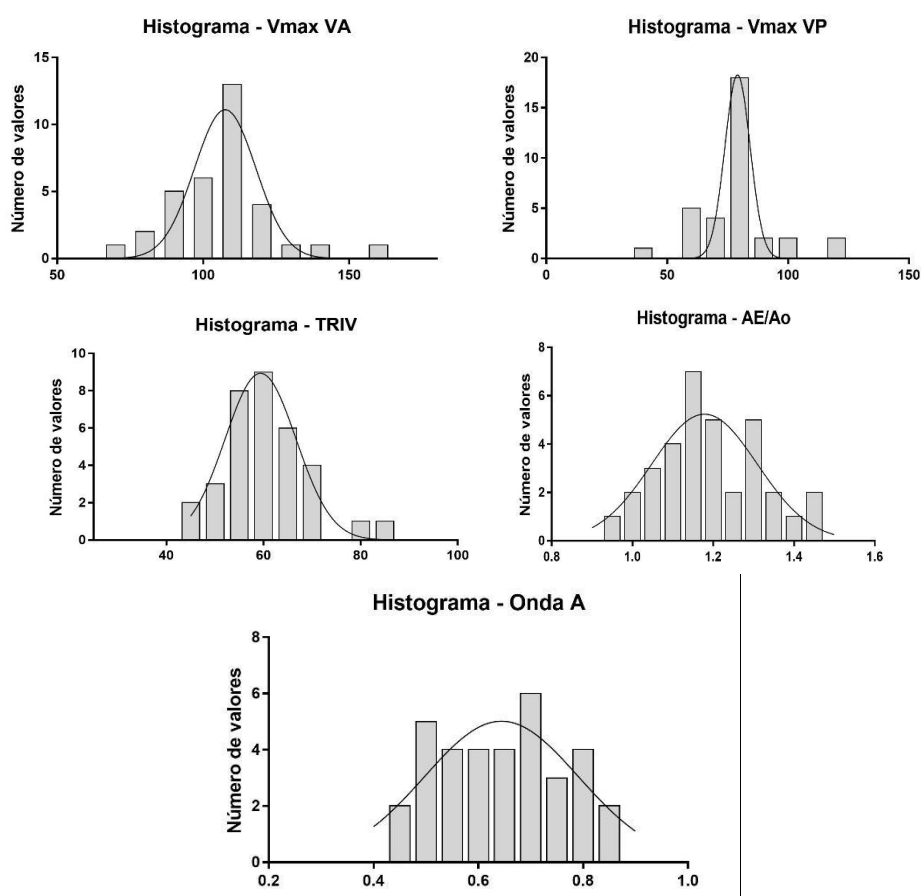


As velocidades de pico de fluxo pulmonar e aórtico mensuradas no presente estudo, encontram-se dentro dos intervalos encontrados por Brown et al. (1991), Kierberger et al. (1992) e Bonagura et al. (1998).

Insuficiência pulmonar discreta foi encontrada, utilizando o doppler colorido, em dois animais dos 44 avaliados (4,5%). Insuficiência aórtica e regurgitação tricúspide discreta não foram detectadas. A detecção de refluxo pulmonar em pacientes clinicamente saudáveis, sem evidência de doença cardíaca, pulmonar e vascular, é considerada fisiológica (CHOONG et al., 1989). Diversos estudos em cães revelaram graus variáveis de insuficiência pulmonar, com prevalência desta alteração variando de 54 até 93% (BROWN et al., 1991; YULL e O'GRADY, 1991; NAKAYAMA et al., 1994; RISHNIW e HOLLIS, 2000). No presente estudo, insuficiência pulmonar discreta foi encontrada em somente 4,5% dos animais avaliados. Esta divergência de prevalência de insuficiência pulmonar no presente estudo, em relação as pesquisas supracitadas, pode ser atribuída à condição específica da raça Shih-tzu, ou ao número reduzido de animais avaliados, comparado aos outros estudos.

Com relação aos parâmetros avaliados através do modo Doppler (fluxo aórtico, fluxo pulmonar e fluxo transvalvar mitral), apenas a velocidade da onda E e o índice E/TRIV não apresentaram distribuição normal (Figura 5) e os parâmetros VmaxVA, VmaxVP, onda A, E/A, TRIV, Empar, Ampar, Mitral E/Empar apresentaram distribuição normal (Figura 7).

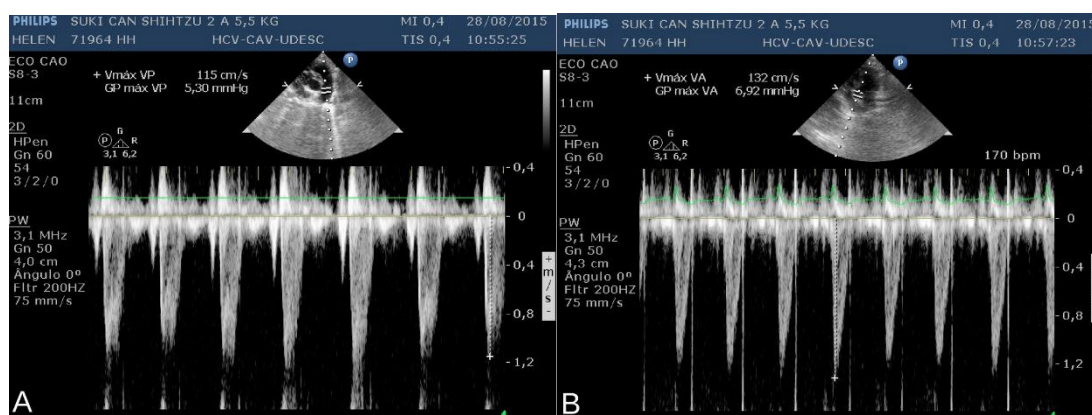
Figura 7 - Gráficos de distribuição de frequências (histogramas) dos parâmetros ecocardiográficos VmaxVA, VmaxVP, onda A, E/A, TRIV, Empar, Ampar, Mitral E/Empar, cuja análise pelo teste Shapiro-Wilk demonstrou distribuição normal, em cães da raça Shih-tzu.



Durante a sístole ventricular, o fluxo aórtico apresentou-se negativo e unifásico, apresentando a velocidade máxima (ápice) voltada para o lado esquerdo do monitor (Figura 8), sendo que a média das velocidades no ponto máximo foram de $106,2 \pm 17,48$ cm/s. O fluxo pulmonar forma-se durante a sístole ventricular, apresentando-se negativo e unifásico, com o pico de velocidade na região mediana, em relação à base do triângulo identificado pela representação gráfica do doppler pulsátil utilizado para esta mensuração. As médias de velocidade de pico de fluxo pulmonar foram de $78,57 \pm 15,5$ cm/s (Tabela 2).

Em relação a velocidade máxima de fluxos sanguíneos não foram observadas diferenças significativas entre machos e fêmeas, o que também foi observado por Alves (2001) e Basille (2008).

Figura 8 - Imagem ultrassonográfica dos corações de cães da raça Shih-tzu, em modo B, demonstrando espectro gráfico gerado pelo recurso doppler pulsátil. A: corte paraesternal direito, plano da aorta e tronco pulmonar, demonstrando fluxo pulmonar. B: corte paraesternal esquerdo, apical 5 câmaras, demonstra espectro do fluxo aórtico.



O espectro do fluxo através da valva atrioventricular esquerda (mitral) apresentou-se, positivo, laminar e bifásico (Figura 9). A relação E/A apresentou-se maior ou igual a 1 em 94,87% (37/39) dos cães avaliados e menor que 1 em 5,13% dos pacientes. A média da velocidade da onda E foi de $0,82 \pm 0,19$ cm/s e da onda A $0,64 \pm 0,12$ cm/s (Tabela 3). Não foi detectada influência da idade nos valores de ondas E, A e TRIV, quando estas variáveis foram avaliadas em subgrupos, divididos por faixa etária (Figura 10).

Valores semelhantes de velocidade de ondas E e A descritos no presente estudo foram encontrados por Chetboul et al. (2005). Por outro lado, os achados de Garncarz et al. (2007), referentes ao fluxo transmitral, são diferentes daqueles verificados nesta pesquisa. Teoricamente, estas medidas não variam de forma relacionada com peso corporal e raça, no entanto, algumas pesquisas demonstram influência direta da idade nestas variáveis (SCHOBER e FUENTES, 2001). Neste trabalho não foi encontrada influência das diferentes faixas de idade nos valores de ondas E, A e TRIV (Figura 6).

Figura 9 - Imagem ultrassonográfica do coração de cão da raça Shih-tzu, em modo B, no corte paraesternal esquerdo apical 4 câmaras, demonstrando espectro gráfico

gerado pelo recurso doppler pulsátil, para registro do fluxo na via de entrada do ventrículo esquerdo (fluxo transmitral), detectado durante a diástole ventricular.

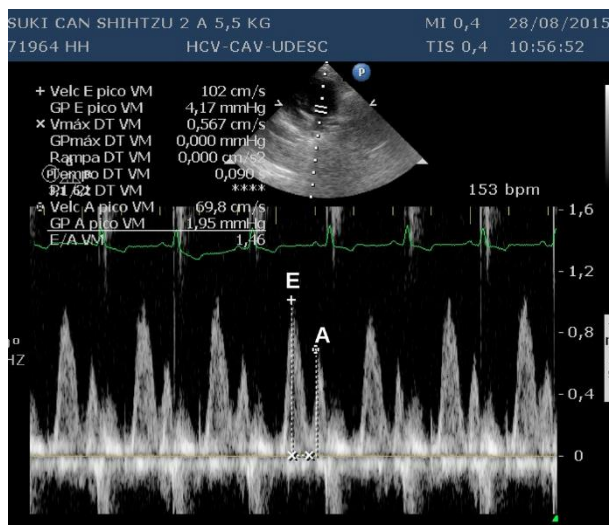
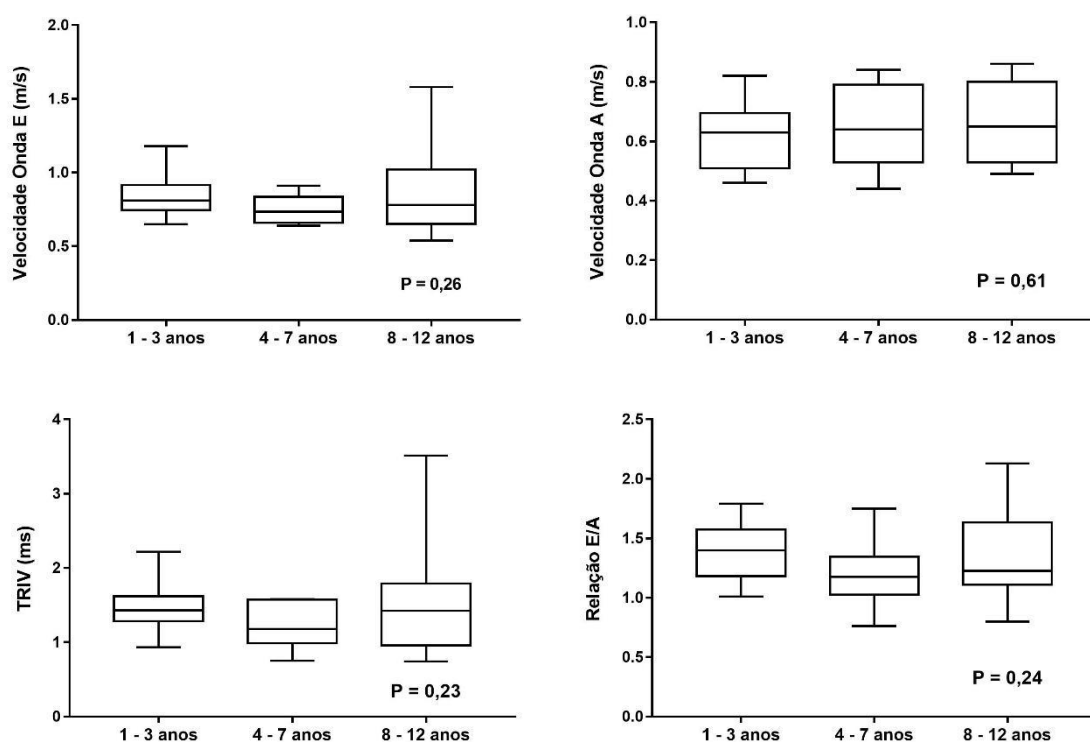


Figura 10 - Gráficos de correlação dos parâmetros ecocardiográficos relacionados ao fluxo transmitral e TRIV, em análise comparativa às diferentes faixas de idade (1-3 anos, 4-7 anos, 8-12 anos), em cães da raça Shih-tzu.



Realizou-se o cálculo do coeficiente de correlação de *Pearson* (r) (JEKEL et al., 1996) para os parâmetros ecocardiográficos em modo M e mensuração de AE e Ao, com a finalidade de estudar a existência de correlação linear das variáveis peso, altura e idade sobre os parâmetros ecocardiográficos. Os dados referentes aos testes de correlação estão dispostos na Tabela 4 e Figuras 11 e 12. Foi verificada correlação

positiva de intensidade forte para as dimensões de Ao e SIVd, avaliados em relação ao peso corporal do animal. Correlação positiva de moderada intensidade foi detectada para a dimensão do AE e PPVEd relacionados ao peso corpóreo, para AE, Ao, SIVd e PPVEd quando avaliados em relação ao IMCC e perimetria torácica. Para dimensões da Ao e SIVd, relacionados com a altura do animal, foi detectada correlação positiva de moderada intensidade.

Tabela 4 - Coeficientes de correlação determinados pelo teste de correlação de Pearson para análise do impacto do peso corporal, IMCC, perimetria torácica e altura nos parâmetros e índices ecocardiográficos.

	Peso corporal (Kg)		IMCC		Perimetria tórax (cm)		Altura (m)	
	<i>Person r</i>	P	<i>Person r</i>	P	<i>Person r</i>	P	<i>Person r</i>	P
Ao(cm)	0,6486*	<0.0001	0,3651*	0,0310	0,5036*	0,0020	0,3387*	0,0466
AE(cm)	0,4632*	0,0051	0,3416*	0,0446	0,4031*	0,0163	0,1801	0,3006
AE/Ao	-0,1409	0,4195	-0,0081	0,9633	-0,0692	0,6930	-0,1308	0,4538
DVDId	0,1977	0,2550	0,1508	0,3873	0,2141	0,2169	0,0834	0,6338
SIVd	0,6817*	<0.0001	0,3506*	0,0389	0,5290*	0,0011	0,4133*	0,0136
DIVEd	0,2434	0,1589	0,0084	0,9618	0,1184	0,4981	0,3131	0,0671
PPVEd	0,5414*	0,0008	0,4493*	0,0068	0,3986*	0,0177	0,0877	0,6164

*Parâmetros e índices que apresentaram correlação significativa.

Um dos objetivos do presente estudo foi avaliar o efeito de covariáveis (ou seja, peso corporal, idade e gênero) no padrão ecocardiográfico e variáveis convencionais no modo Doppler. Neste contexto, foi identificado efeito significativo do peso corporal somente na variável SIVd. Diante disso, uma provável explicação para este achado é que a elevação crônica da pré-carga observada em pacientes obesos, favorece o aumento nas dimensões ventriculares, no estresse parietal e na massa ventricular esquerda, levando ao desenvolvimento de hipertrofia ventricular excêntrica e alterações sistólicas e diastólicas secundárias (ALEXANDER, 1985; ALPERT & HASHIMI, 1993; ROCHA et al., 2007). Esta hipertrofia ventricular esquerda também foi observada em modelos caninos de obesidade (VILLA, 1998).

Figura 11 - Gráficos de correlação dos parâmetros ecocardiográficos referentes ao impacto do peso corporal, IMCC, perimetria torácica e altura nos parâmetros dimensão interna do átrio esquerdo (AE) e aorta (Ao), em cães da raça Shih-tzu.

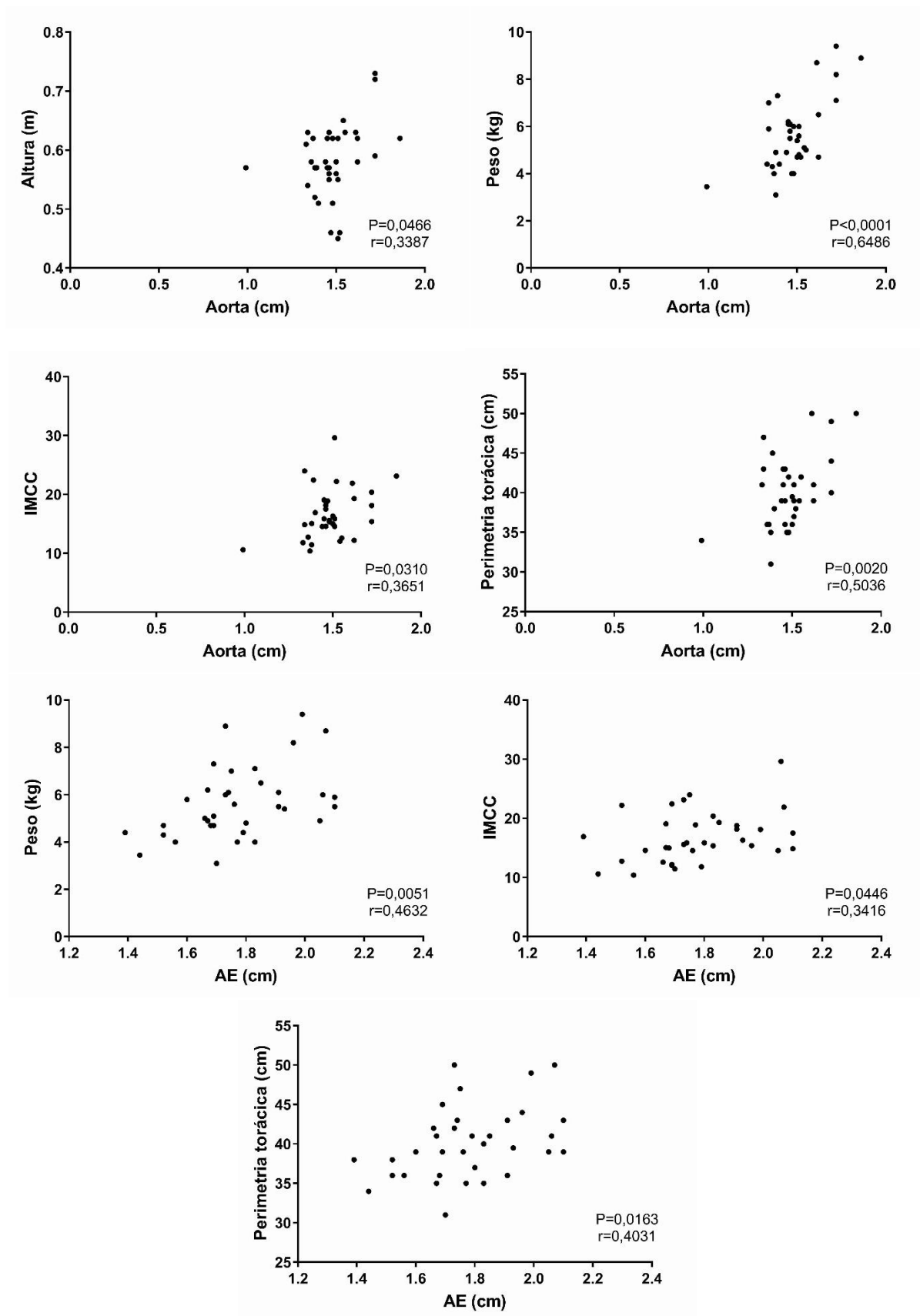
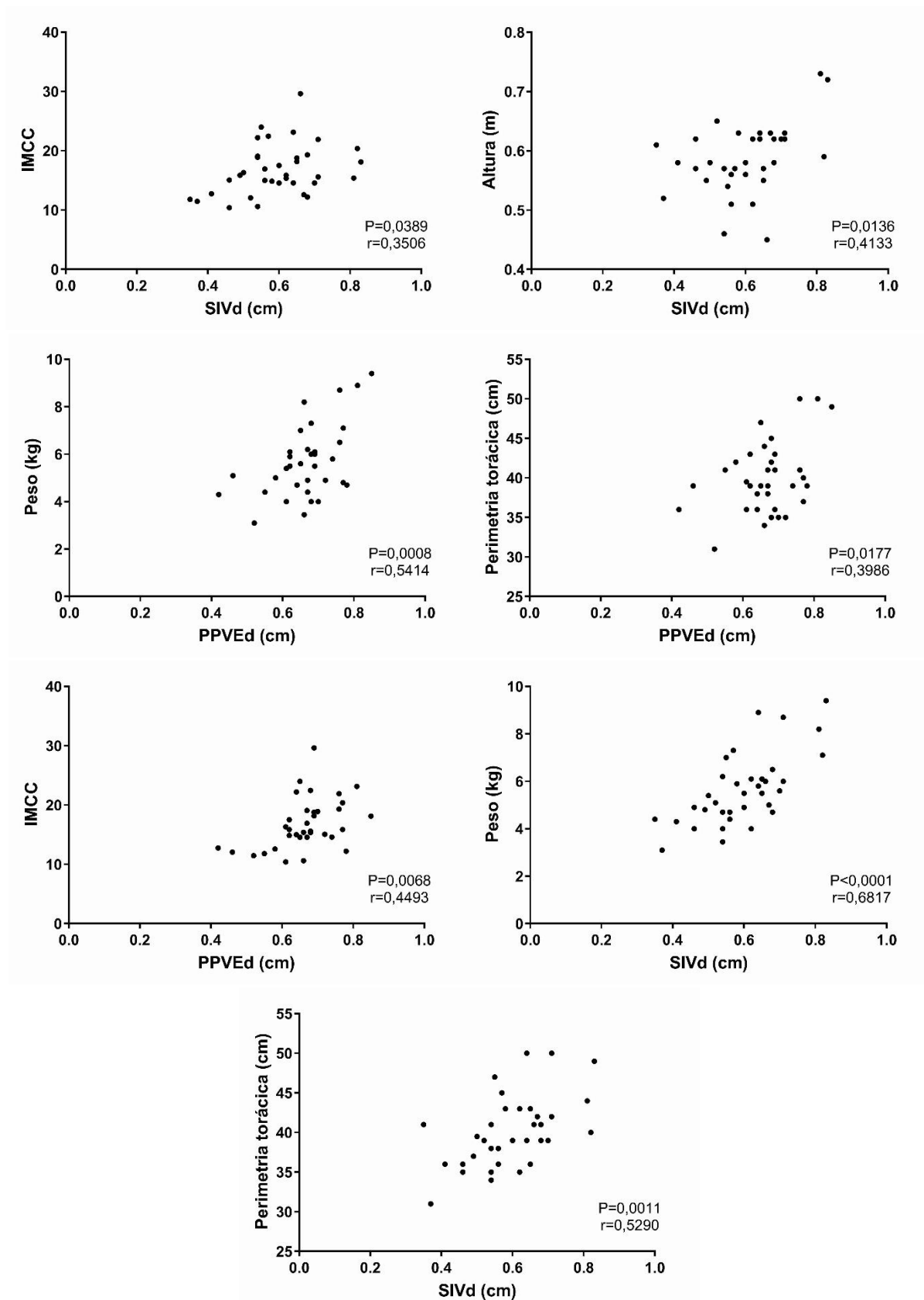


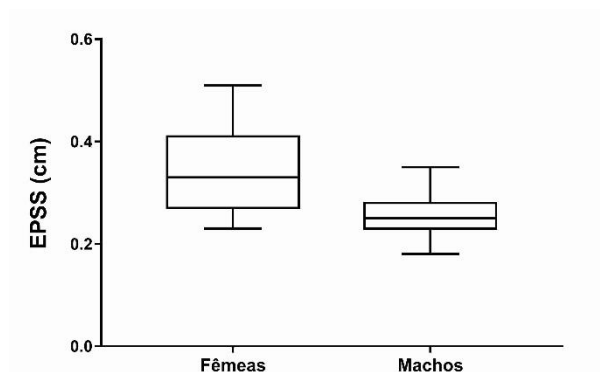
Figura 12 - Gráficos de correlação dos parâmetros ecocardiográficos referentes ao impacto do peso corporal, IMCC, perimetria torácica e altura nos parâmetros SIVd, PPVEd, em cães da raça Shih-tzu.



Correlação de intensidade moderada e forte, respectivamente, para as medidas de AE e Ao, quando comparadas com o peso, foram identificadas no presente estudo. Por outro lado, não observou-se variabilidade significativa para o índice AE:Ao, quando comparado com o peso. Estes achados são totalmente esperados, já que a relação AE:AO é um índice independente de peso corporal. Este índice oferece uma forma mais acurada de medida de AE para qualquer indivíduo, pois o diâmetro da aorta no animal adulto tende a mudar menos, com o passar do tempo, do que o peso corporal (LOMBARD, 1984; BOON, 1998).

Em relação ao impacto do sexo nos parâmetros e índices ecocardiográficos, foi observada diferença significativa apenas para o parâmetro EPSS (Figura 13).

Figura 13 - Gráfico demonstrativo do impacto do sexo no parâmetro ecocardiográfico EPSS.



Segundo Henik (1995) e Kienle e Thomas (1995), a EPSS é um bom índice da função ventricular esquerda, sobretudo quando acompanhado com a FEj(%), visto que quando há diminuição desta, ocorre incremento na distância da onda E ao septo, demonstrando a alteração de forma mais precoce. Segundo Nakajima et al. (1989), é provável a ocorrência de hipertrofia ventricular excêntrica esquerda decorrente de elevação de volume circulante total e do débito cardíaco, presente nos indivíduos normotensos e com sobrepeso, resultando em aumento da EPSS. No presente estudo, foi observado efeito do sexo na variável EPSS, a qual demonstrou-se maior nas fêmeas. Tendo em vista o contexto acima e o fato de que, dentre os animais que apresentaram maior IMCC neste estudo, a maioria era fêmea, podemos sugerir que esta condição influenciou nestes resultados.

1.8 CONCLUSÕES

Diante das condições em que foi realizada esta pesquisa e de acordo com os resultados obtidos na avaliação ecocardiográfica em cães da raça Shih-tzu, pode-se concluir que:

- Há correlação positiva de intensidade forte para as dimensões de Ao e SIVd, em relação ao peso corporal do animal
- Há correlação positiva de moderada intensidade para a dimensão do AE e PPVEd relacionados ao peso corpóreo
- Há correlação positiva de moderada intensidade para AE, Ao, SIVd e PPVEd quando em relação ao IMCC e perimetria torácica.
- Há correlação positiva de moderada intensidade para dimensões da Ao e SIVd, relacionados com a altura do animal.
- O parâmetro EPSS pode variar em função do sexo e da condição corporal nos cães da raça Shih-tzu.
- Os parâmetros DIVEs, DIVEd, EPSS, SIVd, PPVEd e FS diferiram ao comparar o presente estudo com estudos similares em cães de peso corporal similar, mas de outras raças, e também de estudos que se utilizam de modelos matemáticos para determinar os parâmetros ecocardiográficos. Portanto, sugere-se a utilização de valores de referência raça específicos, como os descritos neste estudo, para interpretação dos resultados de ecocardiograma em cães da raça Shih-tzu.

1.9 RELEVÂNCIA CLÍNICA

Devido a influência das diversas conformações corpóreas existentes nos cães, a variabilidade das medidas ecocardiográficas se faz presente não somente entre as espécies animais, mas também entre as raças caninas, o que enaltece a relevância clínica do presente estudo, já que a partir dele, pode-se consultar valores ecocardiográficos de referências específicos para a raça Shih-tzu, evitando assim erros de interpretação, e conseqüentemente, é possível maior acurácia no diagnóstico da avaliação de saúde cardíaca em cães da raça estudada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUCH, M.C. Ecocardiografia. In: CARVALHO, C.F. (Ed.). **Ultrassonografia em pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1. Ed. 2004. 365 p.

ACIERNO, M.J.; LABATO, M.A. Hypertension in dogs and cats. **Comp. Cont. Edu.**, v.26, n.4, p.336-345, 2004.

ALEXANDER, J.K. The cardiomyopathy of obesity. **Prog. Cardiovasc. Dis.**, v.27, p. 325–334, 1985.

ALPERT, M.A.; HASHIMI, M.W. Obesity and the heart. **Am. J. Med. Sci.**, v. 306, p. 117–123, 1993.

ARCHER, S.L.; MIKE, D.K.; HETLAND, M.B. et al. Usefulness of mean aortic valve gradient and left ventricular diastolic filling pattern for distinguishing symptomatic from asymptomatic patients. **Am. J. Cardiol.**, v. 73, n. 4, p. 275-281, 1994.

ALVES, R.O.; ARAÚJO, R.B.; SILVA E.F. et al. Ecocardiografia doppler em cães neonatos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, Belo Horizonte, v. 53, p. 413-419, 2001.

BASILLE, A.L.C. **Avaliações ecodopplercardiográfica, eletrocardiográfica computadorizada, radiográfica e morfométrica em cães adultos da raça Bulldog Inglês**. 2008. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

BAVEGEMS, V.; DUCHATEAU, L.; STANISLAS, U. et al. Echocardiographic reference values in whippets. **Vet. Radiol. Ultrasound**, v. 48, n. 3, p. 230–238, 2007.

BONAGURA, J.D.; M-mode echocardiography: basic principles. **Small Anim. Pract.**, v. 13, n. 2, p. 299–319, 1983.

BONAGURA, J.D.; MILLER, M.W.; DARKE, P.G. Doppler echocardiography. I. Pulsed-wave and continuous wave examinations. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v. 28, n. 7, p. 1325-1359, 1998.

BOON, J. A. **Veterinary Echocardiography**. 2a ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2011. 480p.

BROWN, D.; KNIGHT, D.; KING, R. Use of pulsed-wave Doppler echocardiography to determine aortic and pulmonary velocity and flow variables in clinically normal dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v. 52, p. 543-550, 1991.

BROWN, S.A.; HENIK, R.A.; FINCO, D.R. Diagnosis of systemic hipertension in dogs and cats. In: BONAGURA, J.D. **Small Animal Practice**. Philadelphia: WB Saunders, 2000, p. 835-838.

BROWN, S.; ATKINS, C.; BAGLEY, R. et al. Guidelines for the Identification, Evaluation, and Management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 21, n. 3, p. 542–558, 2007.

BRUTSAERT, D.; SYS, U.; GILLEBERT, T. Diastolic failure: pathophysiology and therapeutic implications. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 22, n. 1, p. 318-325, 1993.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artemed, 2003. 255p.

CASTRO, M.G.; TÔRRES, R.C.S.; ARAÚJO, R.B. Ecocardiografia de cães da raça Yorkshire Terrier clinicamente normais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 63, n. 5, p. 1079-1086, 2011.

CAMPOS, S. Guia de acesso rápido minitab. Porto Alegre: Silqueira Campos, 2017, 75 p.

CHAMAS, P.P.C.; SALDANHA, I.R.R.; COSTA, R.L.O. Prevalência da doença degenerativa valvar crônica mitral em cães. **J. Health Sci. Inst.**, v. 29, n. 3, p. 214-217, 2011.

CHETBOUL, V.; SAMPEDRANO, C.C.; CONCORDET, D. et al. Use of quantitative two-dimensional color tissue Doppler imaging for assessment of left ventricular radial

and longitudinal myocardial velocities in dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v. 66, p. 953-961, 2005.

CHETBOUL, V.; TISSIER R. Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease. **J. Vet. Cardiol.**, v. 14, n.1, p. 127-148, 2012.

CHOONG, C.Y.; ABASCAL, V.M.; WEYMAN, J. et al. Prevalence of valvular regurgitation by Doppler echocardiography in patients with structurally normal hearts by two-dimensional echocardiography. **Am. Heart J.**, v. 117, p. 636-642, 1989.

CORNELL, C. C.; KITTLESON, M. D.; DELLA TORRE, P., et al. Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 18, p. 311-321, 2004.

CRIPPA, L.; FERRO, E.; MELLONI, E. et al. Echocardiographic parameters in the normal Beagle dog. **Lab. Anim.**, v. 26, n. 3, p. 190-195, 1992.

DELLA TORRE, P.K.; KIRBY, A.C.; CHURCH, D.B. et al. Echocardiographic measurements in Greyhounds, Whippets and Italian Greyhounds – dogs with a similar conformation but diferente size. **Aust. Vet. Journal**, v. 78, n. 1, p. 49-52, 2000.

FAGGIANO, P.; RUSCONI, C.; SABATINI, T. et al. Congestive heart failure in patients with valvular aortic stenosis. A clinical and echocardiographic Doppler study. **Cardiol.**, v. 55, n. 2, p. 120-129, 1995.

FOGLE, B. **Cães** 1 ed. São Paulo: Jorge Hazar. 2009. 145p.

GARNCARZ, M.A.; Echocardiographic evaluation of diastolic parameters in dogs with dilated cardiomyopathy. **Pol. J. Vet. Sci.**, v.10, n.1, p. 207-215, 2007.

GIRAUT, S.; HAGGSTROM, J.; HOSKINEN, L.L.E.; et al. Breed-specific reference ranges for standard echocardiographic measurements in salukis. *Journal of Small Animal Practice* (2019)

GONÇALVEZ, A.C.; ORTON, C.; BOON, J.A. et al. Linear, logarithmic, and polynomial models of M-mode echocardiographic measurements in dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v. 63, n. 7, p. 994-999, 2002.

GOODING, J.P.; ROBINSON, W.F., MEWS, G.C. Echocardiographic assessment of left ventricular dimensions in clinically normal English Cocker Spaniels. **Am. J. Vet. Res.**, v. 47, n. 2, p. 296-300, 1986.

HALL, D. J. et al. Meta-analysis of normal canine echocardiographic dimensional data using ratio índices, **J. Vet. Cardiol.**, v. 10, n. 1, p. 11-23, 2008.

HENIK, R. A. Ecocardiografia e ultra-som Doppler. In: TILLEY, L.P.; GOODWIN, J.K. **Manual de Cardiologia para Cães e Gatos**. 3. ed. São Paulo: Roca, p. 67-94, 2002.

KAYAR, A.; GONUL, R.; UYSAL A. M-mode echocardiographic parameters and indices in the normal German shepherd dog. **Vet. Radiol. Ultrasound.**, v. 47, p. 482-486, 2006.

KIENLE, R. D.; THOMAS, W. P. Ecocardiografia. In: NYLAND, T.G.; MATTOON, J.S. **Ultrassom diagnóstico em pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Roca, p.365-438, 2005.

KIERBERGER, R.M.; VAN DEN BERG, P.B.; GRIMBEEK, R.J. Doppler echocardiography in the normal dog: part II. Factors influencing blood flow velocities and a comparison between left and right heart blood flow. **Vet. Radiol. Ultrasound**, v. 33, n.6, p. 380-386, 1992b.

LAFLAMME, D.P. Development and validation of a body condition score system for dogs. **Can. Pract.**, v.22, n. 3, p.10-15, 1997.

LANG, R. M.; BIERIG, M., DEVEREUX, R. B., et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's guidelines and standards committee and the chamber quantification writing group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. **J. Amer. Soc. Echo.**, v. 18, p. 1440-1463, 2005.

LEARY, C.; MACKAY, B.M.; R.H. TAPLIN. Echocardiographic parameters in 14 healthy English Bull Terriers, **Aust. Vet. J.**, v. 81, n. 9, 535-542, 2003.

LESTER, S.J.; TAJIK, A.J.; NISHIMURA, R.A. Unlocking the mysteries of diastolic function: deciphering the Roseta Stone 10 years later. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 51, n.7, p. 679-689, 2008.

LOBO, L.; CANADA, N.; BUSSADORI, C. et al. Transthoracic echocardiography in Estrela Mountain dogs: reference values for the breed. **Vet. J.**, v. 177, p. 250-259, 2008.

LOCATELLI, C.; SANTINI, A.; BONOMETTI, G.A. et al. Echocardiographic values in clinically healthy adult Dogue de Bordeaux dogs. **J. Small Anim. Pract.**, v. 52, p. 246-253, 2011.

LOMBARD, C.W. Normal values of the canine Mmode echocardiogram. **Am. J. Vet. Res.**, v.45, p.2015- 2018, 1984.

LONSDALE, R.A.; LABUC, R.H.; ROBERTSON, I.D. Echocardiographic parameters in training compared with non-training greyhounds. **Vet. Radiol. Ultrasound.**, v. 39, p. 325-330, 1998.

LUSK, R.H.; ETTINGER, S.J. Echocardiographic techniques in the dog and cat. **J. Am. Anim .Hosp. Assoc.**, v. 26, n. 5, p. 473-488, 1990.

MANNION, P. **Diagnostic ultrasound in small animal Practice**. Oxford: Blackwell Publishing, 2006, 338 p.

MARTINS, A.P.R.C. **Parâmetros ecodopplercardiográficos em cães da raça Cocker Spaniel Inglês**. São Paulo, 2005. 126f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2005.

MISBACH, C.; LEFEBVRE, H. P.; CONCORDET, D.; et al. Echocardiography and conventional Doppler examination in clinically healthy adult cavalier king Charles spaniels: effect of body weight, age, and gender, and establishment of reference intervals. **J. Vet. Cardiol.**, v.16, p. 91-100, 2014.

MOISE, N.S.; FOX, P.R. Echocardiography and Doppler imaging. In: FOX, P.R., SISSON D., NOISE N.S.: **Textbook of canine and feline cardiology**, 2ed. New York: Chrchill Livingstone, 1999, p. 130-171.

MORRISON, S.A., MOISE, N.S., SCARLETT, J. et al. Effect of breed and body weight on echocardiographic values in four breeds of dogs of differing somatotype. **J. Vet. Int. Med.**, v. 6, n. 4, p. 220-224, 1992.

MÜLLER, D. C. M.; SCHOSSLER, J. E.; PINHEIRO, M. Adaptação do índice massa corporal humano para cães. **Ciênc. Rural**, v. 38, n.4, p. 1038-1043, 2008.

MUZZI, R.A.L.; ARAÚJO, R.B., MUZZI, L.A. L. et. al. Ecocardiografia modo M em cães normais da raça Pastor alemão (origem americana) do canil da Polícia Militar do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Cienc. Rural**, v.30, n. 5, p. 819-824, 2000.

MUZZI, R.A.; MUZZI, L.A.; DE ARAU´JO, R.B. et al. Echocardiographic indices in normal German shepherd dogs. **J. Vet. Sci.**, v. 7, p. 193-198, 2006.

NAKAYAMA, T.; WAKAO, Y.; TAKIGUCHI, S. et al. Prevalence of valvular regurgitation in normal Beagle dogs detected by color Doppler echocardiography. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 56, p. 973-975, 1994.

OMMENN, S.R. Echocardiography assessment of diastolic function. **Imag. and echocardiog.**, v. 16, n. 4, p. 240-245, 2001.

PAGE, A.; EDMUNDS, G.; ATWELL, R. B. Echocardiographic values in the greyhound. **Aust. Vet. Journ.**, v. 70, p. 361-364, 1993.

PALACIO, M.J.F. Avaliação da pressão arterial sistêmica. In: CORTADELLAS, O. **Manual de nefrologia e urologia clínica canina e felina**. 1 ed. São Paulo: MedVet, cap. 10, 2012. p. 109-125.

PELLEGRINO, A.; PETRUS, L.C.; PEREIRA, G.G. et. al. Padronização de parâmetros ecocardiográficos de cães da raça Golden Retriever clinicamente sadios. **Cien. Rural**, v.37, n. 4, p.1039-1044, 2007.

RAKOWSKI, H.; APPLETON, C.; CHAN, K.L. et al. Canadian consensus recommendations for the measurement and reporting of diastolic dysfunction by

echocardiography: from the Investigators of Consensus on Diastolic Dysfunction by Echocardiography. **J. Am. Soc. Echocardiogr**, v. 9, n. 5, p. 736–60, 1996.

RISHNIW, M.; HOLLIS, N.E. Evaluation of Four 2-Dimensional Echocardiographic Methods of Assessing Left Atrial Size in Dogs. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 14, n. 4, p. 429–435, 2000.

RISHNIW, M.; HOLLIS, N.E. Prevalence and Characterization of Pulmonary Regurgitation in Normal Adult Dogs, **J. Vet. Cardiol.**, v. 2, n. 1, p. 17-21, 2000.

OCHA, I.E.G.M.; VICTOR, E.G.; BRAGA, M.C.; BARBOSA E SILVA, O.; BECKER, M.M.C. Avaliação Ecocardiográfica em Obesos Graves Assintomáticos. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 88, n.1, p.52-58, 2007.

SALLA, K.; BENNETT, R.C.; JUNNILLA, J.; et al. A comparison in dogs of medetomidine, with or without MK-467, and the combination acepromazine-butorphanol as premedication prior to anaesthesia induced by propofol and maintained with isoflurane, **Vet. Anaesth. Analg.**, v. 41, n. 2, p. 163-173, 2014.

SCHILLER, N.B.; SHAH, P.M.; CRAWFORD, M.; et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography: American Society of Echocardiography Committee on Standards Subcommittee. **J. Am. Soc. Ech.**, v.2, n. 5, p. 358-367, 1989.

SCHOBBER, K.E.; FUENTES, V.L. Mitral annulus motion as determined by M-mode echocardiography in normal dogs and dogs with cardiac disease. **Vet. Radiol. Ultrasound**, v.42, n.1, p.52-61, 2001.

SCHOBBER, K.E.; FUENTES, V.L. Effects of age, body weight, and heart rate on transmitral and pulmonary venous flow in clinically normal dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 9, p. 1447-1454, 2001.

SEFASS, P.; CHETBOUL, V.; SAMPEDRANO, C.C. et al. Retrospective study of 942 small-sized dogs: Prevalence of left apical systolic heart murmur and left-sided heart failure, critical effects of breed and sex. **J. Vet. Cardiol.**, v. 8, n. 1, p. 11-18, 2006.

SILVA, E.F.; MELO, M.B.; MUZZI, R.A.L. et al. Índices ecodopplercardiográficos de função ventricular esquerda em cães das raças Boxer e Schnauzer miniatura. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.60, n. 1, p.71-75, 2008.

SMITH, F.K.; REBECCA, L.Q.; RAHILLY, L.J. Biomarkers for differentiation of causes of respiratory distress in dogs and cats: Part 1- Cardiac diseases and pulmonary hypertension. **J. Vet. Emerg. Crit. Care**, v. 25, n. 3, p. 311–329, 2015.

SNYDER, P.S.; TAKASETI, S.; ATKINS, C.E. A comparison of echocardiographic indices of the nonracing healthy greyhound to reference values from other breeds. **Vet. Radiol. Ultrasound**, v. 36, n.5, p. 387-392, 1995.

SISSON D.; SCHAUFFER, D. Changes in linear dimensions of the heart, relative to body weight, as measured by M-mode echocardiography in growing dogs, **Am. J. Vet. Res.**, v. 52, p. 1591-1596, 1991.

VACHON, C.; MARIE, C.B.; BURNS, P.M. Evaluation of oscillometric and Doppler ultrasonic devices for blood pressure measurements in anesthetized and conscious dogs. **Res.Vet. Sci.**, vol. 96, n.1, p. 1-7, 2014.

VILLA, E.; RABANO, A.; ALBARRAN, O.G.; RUILOPE, L.M.; GARCIA-ROBLES, R. Effects of chronic combined treatment with captopril and pravastatin on the progression of insulin resistance and cardiovascular alterations in an experimental model of obesity in dogs. **Am. J. of Hypert.**, v.11, p. 844–851, 1998.

VOLLMAR, A.C. Echocardiographic measurements in the Irish wolfhound: reference values for the breed. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v. 35, n. 4, p. 271-277, 1999.

VÖRÖS, K.; HETYEY, C.; REICZIGEL, J. et al. Czirik GN. M-mode and twodimensional echocardiographic reference values for three Hungarian dog breeds: Hungarian Vizsla, Mudi and Hungarian Greyhound. **Acta. Vet. Hung.**, v.57, p. 217-227, 2009.

YAMATO, R.J. **Estudo dos parâmetros ecocardiográficos em modo M de cães da raça Poodle miniature, clinicamente sadios.** 2001. 94f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

YAMATO, R.J.; LARSSON, M.H.M.A.; MIRANDOLA, R.M.S. et al. Parâmetros ecocardiográficos em modo unidimensional de cães da raça Poodle miniatura, clinicamente saudáveis. **Cienc. Rural**, v. 36, n. 1, p. 142-148, 2006.

YUILL, C.D.M.; O'GRADY, M.R. Doppler-derived velocity of blood flow across the cardiac valves in the normal dog. **Can. J. Vet. Res.**, v. 55, p. 185-192, 1991.

2 CAPÍTULO II – OCORRÊNCIA DE DIROFILARIOSE EM CÃES DO MUNICÍPIO DE LAGES - SC.

RESUMO

A dirofilariose é causada pelo parasita *Dirofilaria immitis*, que se aloja principalmente no ventrículo e átrio direitos do coração e artéria pulmonar de carnívoros domésticos, silvestres e de alguns animais domésticos, como os cavalos. Possui ainda caráter zoonótico. Mudanças ambientais e climáticas, tanto naturais quanto provocadas pelo ser humano, e o movimento de animais, aumentaram o potencial de infecção por dirofilariose em todo o mundo. Tendo em vista a escassez de estudos regionais e às mudanças climáticas recentes, o objetivo deste capítulo foi de investigar a ocorrência de dirofilariose em cães provenientes do município de Lages-SC. Foram realizadas coletas de sangue com EDTA de 74 cães, provenientes do município de Lages, Santa Catarina, cujos tutores declaravam nunca ter retirado o animal para outra localidade. O sangue total com EDTA foi congelado para avaliação posterior. Todos animais foram submetidos a exame físico completo, aferição de pressão arterial e ecocardiograma de rotina. Foi extraído DNA das amostras de sangue e pesquisada a presença de DNA de *D. immitis* utilizando primers espécie-específicos. Todos animais apresentaram resultado negativo pela técnica de PCR para pesquisa de antígenos para *D. immitis*. Conclui-se que nas amostras analisadas de sangue de cães, provenientes da cidade de Lages, Santa Catarina, não há casos positivos para *D. immitis*.

Palavras-chave: cães, *Dirofilaria immitis*, Lages, Santa Catarina.

2 CAPTER II – DIROFILARIOSIS OCURRENCE IN DOGS OF LAGES - SC.

ABSTRACT

Heartworm disease is growth by parasite *Dirofilaria immitis*, which should be mainly in the ventricle and atrium right heart and pulmonary artery of domestic, wild carnivores and some domestic animals such as horses. It also has a zoonotic character. Human-induced environmental and natural changes and the movement of animals have increased the potential for heartworm infection worldwide. Considering the scarcity of regional studies and the new wings, the research plan was investigated in a series of heartworm disease in dogs from the municipality of Lages-SC. EDTA blood samples were collected from 74 dogs from the municipality of Lages, in the state of Santa Catarina, where tutors reported never having taken the animal to another location. Total EDTA blood was frozen for further evaluation. All the exams were performed, as well as blood pressure and routine echocardiography. DNA-to-DNA is used as a DNA-specific primer. The influence of PCR on the antigen search for *D. immitis*. In conclusion, the samples analyzed from dogs from the city of Lages, Santa Catarina, are not positive cases for *D. immitis*.

Key-words: dogs, *Dirofilaria immitis*, Lages, Santa Catarina.

2.1 INTRODUÇÃO

A *Dirofilaria immitis* Leidy, 1856 é um parasito filariano, que se aloja principalmente no ventrículo e átrio direitos do coração e artéria pulmonar de carnívoros domésticos, silvestres e de alguns animais domésticos, como os cavalos (SIMÓN et al., 2012).

A dirofilariose, doença endêmica nas Américas, e outras regiões do globo, como África, Europa, Japão e Austrália, tem apresentado comportamento progressivo, com a introdução dos vetores e dos parasitas em locais historicamente não afetados, como citam Bowman et al. (2009), nos Estados Unidos, Genchi et al. (2009) na Europa, Vezzani e Carbajo (2006) na Argentina e Ahid et al. (2000) no Brasil.

Em Florianópolis, na região da Lagoa da Conceição, foi reportada uma prevalência de 15% (ARAÚJO et al., 2003). Este mesmo modelo de estudo foi utilizado para avaliar 200 cães na região do planalto serrano, em Lages, onde também não foi verificado nenhum caso positivo (SARTOR, 2004). Também em Santa Catarina, no litoral, em um estudo realizado entre 2005 e 2006, não foram detectados animais positivos, dos 120 cães avaliados através da pesquisa de antígenos para *D. immitis* (SARTOR et al., 2006). No entanto, estudos recentes são escassos a respeito da distribuição desta parasitose.

Tendo em vista a escassez de estudos regionais e às mudanças climáticas recentes, optou-se por sincronizar estas pesquisas, utilizando o material biológico para o levantamento de dirofilariose. Portanto, a proposta deste capítulo foi de investigar a ocorrência de dirofilariose em cães provenientes do município de Lages-SC.

2.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.2.1 DIROFILARIOSE

A dirofilariose, também chamada “doença do verme do coração” (heartworm disease), é uma antroponose emergente de cães, de caráter crônico. A dirofilariose é causada pelo nematódeo *Dirofilaria immitis*, pertencente a superfamília Filarioidea, família Onchocercidae. Embora os canídeos domésticos sejam os hospedeiros definitivos de dirofilárias, o parasito foi encontrado em mais de 30 espécies animais, inclusive gatos domésticos e felídeos silvestres, ursos, furões, focas e seres humanos (GREENE, 2015). O ciclo natural e a transmissão das dirofilárias requer um reservatório da infecção, um mosquito vetor competente e condições climáticas favoráveis (HOCH e STRICKLAND, 2008). O completo desenvolvimento das microfilárias já foi demonstrado em diversas espécies de mosquitos, dos gêneros *Culex*, *Aedes*, *Anopheles*, *Mansonia*, *Psorophora* e *Coquillettidia* (LUDLAM et al. 1970).

A dirofilariose é endêmica nas Américas, e outras regiões do globo, como África, Europa, Japão e Austrália, e tem apresentado comportamento progressivo, com introdução dos vetores e dos parasitas em locais historicamente não afetados, como citam Bowman et al. (2009), nos Estados Unidos, Genchi et al. (2009) na Europa, Vezzani e Carbajo (2006) na Argentina e Ahid et al. (2000) no Brasil.

Estudos em laboratório determinaram que é necessária uma temperatura mínima de 14°C para o desenvolvimento das larvas de dirofilaria até o terceiro estágio infectante (L3) (LOK e KNIGHT, 1998). No entanto, o efeito de “ilhas de calor”, nas áreas urbanas, pode criar microambientes capazes de manter o desenvolvimento das larvas de dirofilárias mesmo em regiões de clima frio (NELSON et. al., 2010).

Segundo Genchi et al. (2009 e 2011), mudanças climáticas associadas ao aumento da temperatura, em conjunto com o incremento das migrações de cães e pessoas pela Europa, são responsáveis pela maior abrangência geográfica das infecções por *Dirofilaria* nesta parte do globo. Evolução semelhante também foi observada em outras regiões, como nos Estados Unidos, onde, nos últimos 30 anos,

verificou-se aumento da prevalência em todos os estados, com exceção do Alasca (BOWMAN et al., 2009).

Na Argentina, Vezzani e Carbajo (2006) avaliaram o potencial de risco para o desenvolvimento de focos de dirofilariose, baseado nas características climáticas e presença dos mosquitos vetores, nas respectivas regiões geográficas, e observaram ampla distribuição em todos estados, com exceção de áreas no extremo sul. No entanto, não foram realizadas pesquisas de campo visando detectar a prevalência real nestas áreas.

No Brasil alguns estudos epidemiológicos foram realizados, demonstrando prevalência de dirofilariose de 2,3% no Recife (ALVES et al., 1999), 43–46% no Maranhão (AHID et al., 1999), 12,5% em Alagoas (GUERRERO et al. 1992), 16,1–49% no Rio de Janeiro (LABARTHE et al., 1997), 8,8% em São Paulo (GUERRERO et al., 1992), 2% Mato Grosso (GUERRERO et al. (1992), 1,1% no Rio Grande do Sul (GUERRERO et al., 1992) e 0-20% no Paraná (REIFUR et al., 2004). Em Florianópolis, na região da Lagoa da Conceição, foi reportada uma prevalência de 15% (ARAÚJO et al., 2003). Este mesmo modelo de estudo citado anteriormente foi utilizado para avaliar 200 cães na região do planalto serrano, em Lages, onde também não foi verificado nenhum caso positivo (SARTOR, 2004). Ainda em Santa Catarina, também no litoral, em um estudo realizado entre 2005 e 2006, não foram detectados animais positivos, dos 120 cães avaliados através da pesquisa de antígenos para *D. immitis* (SARTOR et al., 2006). Com exceção destes estudos citados, não foram encontrados estudos recentes que reportam a ocorrência desta parasitose em Santa Catarina.

O ciclo biológico da *D. immitis* dura de sete a nove meses (210 a 270 dias). As fêmeas do mosquito que se alimentam em um hospedeiro canino com microfilaremia ingerem as microfilárias que se transformam em larvas do primeiro estágio no mosquito. Estas larvas passam por transformações, na dependência da temperatura ambiental média, nas próximas duas a quatro semanas, transformando-se na larva 3 (L3) infectante, a qual pode ser inoculada na pele de um cão susceptível durante a hematofagia do vetor (GREENE, 2015). Após a entrada da L3 na pele do novo hospedeiro, ela passará para o quarto estágio (L4). A L4 migra no tecido subcutâneo e nos músculos em direção ao tórax, e em aproximadamente 50 a 70 dias após a infecção, passa pela última muda, tornando-se verme jovem. Os vermes juvenis, por

fim, penetram no tecido muscular e adentram à circulação sanguínea, onde, após invadirem uma veia periférica, são levados ao coração e artérias pulmonares, o que leva em média 70 dias. Em média após 120 dias da inoculação, praticamente todos vermes juvenis entraram nos vasos pulmonares onde atingem maturidade sexual e são produzidas microfírias que caem na circulação, reiniciando um novo ciclo (KOTANI e POWERS, 1982).

Do ponto de vista clínico, a dirofilariose causa, primordialmente, danos às artérias pulmonares e aos pulmões. Após a entrada dos vermes nas artérias pulmonares ocorre eosinofilia e pneumonite eosinofílica (CALVERT e LOSONSKY, 1985). Os vermes maduros causam danos endotelial nos vasos pulmonares, proliferação vilosa e infiltrados neutrofílicos nas paredes vasculares (DILLON et al., 1995a). A gravidade da doença pode ser afetada pelo número de vermes e duração da infecção. No entanto, o grau de atividade do cão está associado diretamente com a velocidade da evolução da doença, sendo que cães que permanecem mais tempo em repouso demoram mais para apresentar sinais clínicos (DILLON et al., 1995b). Apesar destes efeitos dos vermes vivos, sinais mais severos são esperados na medida que os vermes morrem, pois eles se decompõem, liberando pequenos fragmentos que podem se alojar nas arteríolas pulmonares distais e nos leitos capilares dos lobos pulmonares caudais, bloqueando o fluxo sanguíneo, caracterizando o tromboembolismo pulmonar (DILLON et al., 1995a).

Durante os períodos de aumento da atividade ou exercício, o aumento do fluxo sanguíneo para estes vasos bloqueados faz com que os capilares frágeis se rompam, com hemorragia resultante e fibrose subsequente. Tal fibrose, aliada a liberação de substâncias vasoativas pelos vermes, aumenta a resistência vascular pulmonar e causa hipertensão pulmonar subsequente (KITOH et al., 2001). O ecocardiograma é o método diagnóstico de eleição para detecção da hipertensão pulmonar (SOYDAN et al., 2015). As consequências destes eventos vasculares são “cor pulmonale” e ICC direita potencial. Ainda, em uma pequena porcentagem dos casos, pode ocorrer a “síndrome caval”, que resulta da localização dos vermes na veia cava caudal e átrio direito, causando interferência na função da válvula tricúspide. Este evento ocorre quando uma grande quantidade de vermes preenche a artéria pulmonar, estendendo-se para o ventrículo e átrio direitos (ATKINS et al., 1988).

Os vermes adultos, na artéria pulmonar, podem ser localizados através da ecocardiografia, desde que estejam na janela visual do ultrassom, quando são visualizadas as paredes ecogênicas de dirofilárias imaturas ou maduras que residem no lúmen da árvore arterial pulmonar (KITAGAWA et al., 1990; PRAVEEN et al., 2012; TAI e HUANG, 2013). Ocasionalmente, nos quadros de “síndrome caval” os vermes podem ser visualizados no ventrículo e átrio direitos (ATKINS et al., 1988). Cães com sinais de hipertensão pulmonar sem causa definida devem ser investigados para dirofilariose (TAI e HUANG, 2013).

D. immitis, além de responsável por distúrbios cardiovasculares em seus hospedeiros naturais, é também uma zoonose. Quando infecta o ser humano, *D. immitis* não atinge a maturidade. Normalmente é diagnosticada por biópsia pulmonar excisional. Exames de imagem podem revelar nódulos no pulmão que são identificados por histopatologia. Na maioria dos casos são encontrados exemplares juvenis (PAMPLIGLIONE et al., 1996)

Em geral, 50% dos casos humanos, ou mais, são assintomáticos, mas tosse e dor torácica, durante aproximadamente um mês podem ocorrer. Outros sinais como febre, mal-estar, mialgia e hemoptise também já foram relatados (ACHA e SZYFRES, 2003).

A ocorrência de casos humanos tem sido registrada em todo o mundo. Embora classificada como zoonose pela Organização Mundial da Saúde (ACHA e SZYFRES, 2003), não é considerada um problema de saúde pública. Entretanto, os casos humanos, mesmo isolados, apresentam importância médica e devem ser devidamente acompanhados.

No Brasil, os primeiros casos de *D. immitis* em humanos foram registrados ainda no final do século XIX (SILVA e LANGONI, 2009). Dados de infecções humanas por *D. immitis* no país apresentam resultados bastante variados. Enquanto Acha e Szyfres (2003) informam que, dos casos registrados entre 1995 e 2000, houve somente um no Brasil. Campos et al. (1997) relatam 24 casos em São Paulo, no período de 1982 a 1996, e Rodrigues-Silva et al. (2004) registram 50 casos no país. Em Santa Catarina, Cavallazzi et al. (2002), em Florianópolis, e Bublitz et al. (2012), em Joinville, descrevem sete e oito casos, respectivamente.

O diagnóstico das microfilárias pode ser realizado através da observação microscópica de uma gota de sangue com anticoagulante mediante técnicas de hemoconcentração, no entanto, em até 80% dos cães infectados as microfilárias não são identificadas. Estas infecções “ocultas” podem ocorrer como resultado de infecções por um único sexo, respostas imunes do hospedeiro que suprimem a reprodução do helminto e, quando o cão foi submetido à prevenção de dirofilariose (GREENE, 2015). Ainda, Patton e Faulkner (1992) citam que é preciso diferenciar microfilárias de *D. immitis* daquelas de *Acanthocheilonema reconditum*.

A detecção de antígeno é o método recomendado para a triagem diagnóstica primária em cães (GREENE, 2015). Estes testes detectam, através de métodos de imunoensaio enzimático, uma glicoproteína secretada principalmente pelas fêmeas (MCCALL et al., 2001). As principais limitações destes são 1) boa sensibilidade (90-95%) somente na presença de mais de três vermes fêmeas adultas e 2) a detecção dos antígenos só é possível 5-7 meses após infecção (NELSON et al., 2010).

Ainda em relação ao diagnóstico, conforme Carreton et al. (2011), em cães positivos no teste de antígenos para dirofilárias, os níveis de troponina I foram significativamente maiores em comparação com o grupo controle, no entanto, estes achados não são específicos para esta doença.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) também tem sido utilizada para diagnóstico em pesquisas envolvendo o gênero *Dirofilaria*. O “genobank” tem informações de sequenciamento genético dos seguintes nematódeos filaróides: *D. immitis*, *D. repens*, *Setaria digitata*, *S. tundra*, *Brugia malayi*, *Wuchereria bancrofti*, *Onchocerca flexuosa* e *O. volvulus* (KRONEFELD et al., 2014).

Rishniw et al. (2006) citam que a técnica de PCR demonstra maior sensibilidade e especificidade para detecção de *D. immitis*, em relação à pesquisa de antígenos e do diagnóstico direto através de esfregaço sanguíneo. Além disso, sugerem que a PCR pode ser adequada para genotipagem de todos os membros da família Onchocercidae. Por este motivo esta técnica foi escolhida como metodologia de detecção de *D. immitis* no presente estudo.

2.3 JUSTIFICATIVA

A *Dirofilariose* tem apresentado comportamento progressivo, com introdução dos vetores e dos parasitas em locais historicamente não afetados, como citam Bowman et al. (2009), nos Estados Unidos, Genchi et al. (2009) na Europa, Vezzani e Carbajo (2006) na Argentina e Ahid et al. (2000) no Brasil. Em Florianópolis, na região da Lagoa da Conceição, foi reportada uma prevalência de 15% (ARAÚJO et al., 2003). Este mesmo modelo de estudo foi utilizado para avaliar 200 cães na região do planalto serrano, em Lages, onde também não foi verificado nenhum caso positivo (SARTOR, 2004). Também em Santa Catarina, no litoral, em um estudo realizado entre 2005 e 2006, não foram detectados animais positivos, dos 120 cães avaliados através da pesquisa de antígenos para *Dirofilaria immitis* (SARTOR et al., 2006). No entanto, estudos recentes são escassos a respeito da distribuição desta parasitose.

2.4 HIPÓTESES

A utilização de métodos mais sensíveis (PCR) que os empregados em estudos anteriores na região (detecção de antígeno), aliada a intensa mobilidade de cães na atualidade (cães da região serrana que frequentam o litoral e vice-versa), aumenta a acurácia da investigação de *D. immitis* podendo apresentar resultados positivos em cães da região serrana.

2.5 OBJETIVOS

2.5.1 OBJETIVOS GERAIS

- Investigar a ocorrência da infecção por *D. immitis* em cães no município de Lages-SC.

2.6 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi enviado para o Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) e aprovado sob o número de protocolo CEUA nº 3253240816.

Foram utilizados 74 caninos adultos (≥ 12 meses), sendo 44 da raça Shih-tzu, machos e fêmeas, apresentando ou não sinais de doença cardíaca e 30 cães de raças diversas, oriundos da rotina clínica do serviço de cardiologia veterinária da Universidade do Estado de Santa Catarina e da Clínica Veterinária Cães e Gatos, ambas situadas em Lages, Santa Catarina. Os animais foram submetidos a exame físico completo, aferição de pressão arterial pelo método de doppler vascular e ecocardiografia. Foram coletadas amostras de sangue para hemograma completo, perfil hepático [alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA)], perfil renal (creatinina e ureia). Os critérios de exclusão para o estudo incluíam: cães que sabidamente transitavam entre região serrana e litoral catarinense, ou outras regiões do Brasil; cães que tenham utilizado medicação microfilaricida.

Amostras de sangue total com EDTA foram armazenadas (-20°C) para detecção do DNA de *D. immitis* pela técnica de PCR.

2.6.1 DETECÇÃO DE *D. immitis* PELA PCR

Foram coletadas amostras de 1 mL de sangue total, com EDTA, para extração de DNA. Todas amostras foram mantidas individualmente e congeladas a -20°C até descongelamento para extração de DNA.

Após o descongelamento das amostras em temperatura ambiente, a extração foi realizada, como descrito por Rishniw et al. (2006), utilizando-se 500 μL de sangue com anticoagulante com adição de 500 μL de solução tampão (50mM Tris, pH 8.0; 100mM edta, 100 mM NaCl, 1% SDS) para lise do material genético, adicionados ainda de 10 μL de proteinase K (10mg/mL) por 16 horas a 55°C , seguido da aplicação do método de extração padrão utilizando fenol/clorofórmio, como descrito anteriormente por Sambrook e Russel (2001).

A detecção de DNA *D. immitis* no sangue foi realizada utilizando primers espécie-específicos: “forward Diro” (5'-ACGTATCTGAGCTGGCTCAC-3') e “reverse Diro” (5'ATGATCATTCCGCTTACGCC-3') (Invitrogen®), conforme descrito por Watts et al. (1999).

A reação de PCR foi realizada em um volume final de 20 µl, contendo 200 mM de uma mistura de dNTPs, 25 pmol de cada iniciador, uma unidade de Taq DNA polimerase e 4 µl de DNA obtido. As reações de amplificação foram realizadas com termociclador com o seguinte programa: desnaturação inicial de 4 minutos a 95°C, ligação dos iniciadores a 55 °C/ 1 minuto, extensão a 72°C / 1 minuto, seguido de 25 ciclos 95 °C/1min, 55°C/1 min, extensão a 72°C/1 min e um ciclo final de extensão a 72°C/5 min (SCOLES e KAMBHAMPATI, 1995).

O controle positivo foi obtido pela maceração e extração de DNA de exemplares de *D. immits* gentilmente cedidos pela Dra Norma Vollmer Labarthe, do Laboratório de Imunomodulação e Protozoologia do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ.

2.7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados 44 cães da raça Shih-tzu, sendo 24 machos e 20 fêmeas, entre um e 14 anos, com peso corporal de 3,1 a 9,4 kg e 30 pacientes caninos de raças diversas, com idade de 9 a 18 anos, com peso corporal de 2,7 a 11,3kg, todos residentes no município de Lages, Santa Catarina. Todos os tutores destes animais relatavam ter adquirido o animal nesta cidade e nunca ter retirado seu pet para outra localidade. Os tutores relatavam que nunca haviam utilizados medicamentos para prevenção de dirofilariose em seus animais.

Todos animais foram submetidos a estudo ecocardiográfico completo e não foi detectada nenhuma alteração sugestiva de alojamento de vermes adultos em artéria pulmonar, átrio direito e ventrículo direitos. Nenhum cão apresentava alterações sugestivas de hipertensão arterial pulmonar.

Não foi encontrado nenhum caso positivo de todos animais submetidos a detecção de DNA de *D. immitis* pela técnica de PCR.

Em diversos estudos recentes, casos de dirofilariose passaram a ser reportados em zonas tradicionalmente consideradas livres da doença e relatos da doença, de origem autóctone, foram descritos no centro e norte da Europa, regiões onde até há pouco tempo, apenas tinham sido descritos casos “importados” (ALHO et al., 2014). No Brasil, os estudos descrevem ocorrência de 0 até 50% nas populações caninas avaliadas em diversos estados (AHID et al., 1999; ALVES et al., 1999; ARAÚJO et al., 2003; SARTOR et al., 2006). O aumento do número de casos tem uma etiologia multifatorial, podendo-se destacar os seguintes fatores: alterações climáticas (aquecimento global) e alterações ecológicas artificiais (a criação de barragens e de novas zonas de produção agrícola) (GENCHI et al., 2009). Na região serrana, mais especificamente na cidade de Lages, Santa Catarina, o último estudo que avaliou a presença de animais reagentes para dirofilariose foi em 2004 (SARTOR et al., 2004) justificando pesquisas nesta área tendo em vista a tendência global de disseminação deste parasita mesmo em regiões tradicionalmente mais “frias”.

No presente estudo foram avaliados 74 cães, a maioria deles eram animais que frequentam regularmente clínicas veterinárias e provavelmente, possuem tutores mais cuidadosos. Os animais que porventura tenham recebido tratamento com lactonas

macrocíclicas provavelmente não desenvolverão vermes adultos e sintomas da doença, bem como não reagirão nos testes de pesquisa de antígeno e PCR (ALHO et al., 2014). Esta classe de fármacos, apesar de não impedir a picada do vetor, bloqueia o desenvolvimento larvar (BOWMAN e MANNELLA, 2011). Apesar de termos excluídos do estudo aqueles animais cujos tutores declararam terem utilizados fármacos da classe supracitada, é impossível garantir que os animais avaliados não tenham sido submetidos a estes tratamentos. Portanto, a nulidade de ocorrência de *D. immitis*, verificada por meio da PCR no presente estudo, não garante que a doença não está presente na região onde os animais foram avaliados.

Estudos em laboratório determinaram que é necessária uma temperatura mínima de 14°C para o desenvolvimento das larvas de dirofilária até o terceiro estágio infectante (L3) (LOK e KNIGHT, 1998). Segundo o Wrege et al. (2012), a temperatura média anual em Lages é de 16°C, o que supostamente permite o desenvolvimento dos estágios larvais nos vetores, teoricamente, viabilizando a transmissão desta parasitose nesta região, sobretudo nos meses de calor. Apesar destas hipóteses, na amostra analisada no presente estudo, não foram encontrados cães positivos.

Ainda neste contexto, devemos considerar o efeito de “ilhas de calor”, nas áreas urbanas, que pode gerar microambientes capazes de manter o desenvolvimento das larvas de dirofilárias mesmo em regiões de clima frio (NELSON et. al., 2010). Neste sentido, seria interessante um estudo adicional, com um número mais expressivo de cães, incluindo animais errantes, e em situações mais vulneráveis, com maior chance de contato os vetores e com improvável acesso ao tratamento protetor, para melhor avaliação da incidência de *D. immitis* na região serrana catarinense.

Outro aspecto a ser considerado é que a *D. immitis* apresenta baixa especificidade de hospedeiros vertebrados, podendo infectar diversas espécies de mamíferos, além dos carnívoros domésticos, como raposas (*Vulpes vulpes*), lobos (*Canis lupus*) e cavalos (*Equus caballus*) (SIMÓN et al., 2012). Para uma avaliação mais confiável e ampla, seria importante incluir na pesquisa coleta de sangue e avaliação da presença do DNA de *D. immitis* também nestas espécies.

Os principais métodos para diagnóstico da dirofilariose canina são o da gota espessa e o método de Knott, ambos testes rápidos e baratos. Apesar de muito utilizados, estes testes podem apresentar resultados falso negativos. Se a população de vermes adultos for do mesmo sexo e dependendo da fase biológica do parasita, a

produção de microfilárias não acontece, o que acarretará resultados falso negativos nestes testes (OGAWA, 2013). Outro aspecto negativo a ser considerado nestas técnicas de diagnóstico é a possibilidade de falso positivo, quando da confusão com microfilárias de *Dipetalonema reconditum* (Sin.: *Acanthocheilonema reconditum*) (HOCH e STRICKLAND, 2008; NELSON et al. 2018). Mais recentemente, devido a facilidade e especificidade dos testes rápidos para pesquisa de antígenos (Atkins, 2003) esta linha de diagnóstico tem sido utilizada amplamente na rotina clínica, porém também apresenta o viés de somente identificar infestações com um ou mais nematódeos fêmeas adultas com pelo menos sete a oito meses de idade, no entanto não detectam infestações com menos de cinco meses e casos de microfilaremia. Devido a estes problemas inerentes ao método, nos testes acima citados, optou-se por realizar neste estudo a pesquisa de DNA de *D. immitis* através da técnica de PCR, devido maior confiabilidade deste método.

Os parasitas adultos podem ser visualizados na ecocardiografia visto que a parede do corpo dos vermes adultos é altamente ecogênica e produz imagens curtas e paralelas, distintas, com o surgimento de linhas ecogênicas paralelas no lúmen da artéria pulmonar e em infecções maciças, pode-se identificar as estruturas em átrio direito e ventrículo direito (BADERTSCHER et al., 1988; MOISE, 1999). A ecocardiografia pode ainda fornecer evidências definitivas de infecção por dirofilariose e também permite avaliar as consequências anatômicas e funcionais cardíacas da doença. No presente estudo não foi identificada nenhuma alteração sugestiva de dirofilariose, no entanto, particularmente em cães levemente infectados, a ecocardiografia, isoladamente, não é um método efetivo de diagnóstico, pois os vermes frequentemente se limitam aos ramos periféricos das artérias pulmonares além do campo de visão ecocardiográfico (TAI e HUANG, 2013; NELSON et al., 2018).

2.8 CONCLUSÃO

Apesar do aumento da temperatura média anual nos últimos anos e o incremento na mobilidade dos cães entre as regiões serrana e litorânea do estado de Santa Catarina, no presente estudo não foram encontrados animais positivos para *D. immitis*, pela técnica da PCR.

2.9 RELEVÂNCIA CLÍNICA

Mudanças ambientais e climáticas, tanto naturais quanto criadas por seres humanos, e o movimento de animais aumentaram o potencial de infecção por dirofilariose em todo o mundo. Diante deste cenário, estudos, assim como este aqui descrito, que definam a incidência em regiões onde teoricamente a parasitose não está presente são essenciais para traçar planos de profilaxia e direcionamento diagnóstico e terapêutico, quando o clínico se depara com situações com quadro clínico compatível.

2.10 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Este estudo não avaliou uma proporção significativa de cães para que se pudesse confirmar a nulidade de ocorrência de *Dirofilariose* na região serrana catarinense. Sugere-se a realização de novos estudos com este propósito, com avaliação de um número mais expressivo de animais distribuídos homogeneamente e de forma aleatória na cidade de Lages e municípios vizinhos, bem como inclusão de avaliação de raposas (*Vulpes vulpes*), lobos (*Canis lupus*), e cavalos (*Equus caballus*) e também verificação das formas infectantes nos vetores conhecidos para esta parasitose.

2.11 AGRADECIMENTOS

Estudo realizado no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), com apoio financeiro do Fundo de Apoio à Manutenção e ao Desenvolvimento da Educação Superior (FUMDES) do estado de Santa Catarina e da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. 3 ed. Washington DC: PAHO. Vol. 3, n. 580. **Parasitoses**. Scientific and Technical Publication, 2003.

AHID, S.M.M.; VASCONCELOS, P.S.S.; OLIVEIRA, R.L. Vector Competence of *Culex quinquefasciatus* Say from Different Regions of Brazil to *Dirofilaria immitis*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 6, p. 769-775, 2000.

ALHO, A.M.; MEIRELES, J.; BELO, S. et al. Dirofilariose canina e felina, uma parasitose em evolução (I) - Etiologia, Biologia e Epidemiologia. *Clinica Animal*, v. 3, n. 1, p. 20-25, 2014.

ALVES, L.C.; SILVA, L.V.; FAUSTINO, M.A. et al. Survey of canine heartworm in the city of Recife, Pernambuco, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 5, p. 587–590, 1999.

ARAÚJO, R.T.; MARCONDES, C.B.; BASTOS, L.C. et al. Canine dirofilariasis in the region of Conceição Lagoon, Florianópolis, and in the Military Police kennel, São José, State of Santa Catarina, Brazil. **Vet. Parasit.**, n. 113, p. 239–242, 2003.

ATKINS, C.E. Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. *J Am Vet Med Assoc*. 2003; 222:1221-1223.

BADERTSCHER, R.R.; LOSONSKY, J.M.; KNELLER, S.K. Two-dimensional echocardiography for diagnosis of dirofilariasis in nine dogs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 1, n. 7, p. 843-6, 1988.

BOWMAN, D.; LITTLE, S.E.; LORENTZEN, L. Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: Results of a national clinic-based serologic survey. **Vet. Parasit.**, v. 160, n. 1-2, p. 138-148, 2009.

BOWMAN, D.D.; MANNELLA, C. Macrocyclic lactones and *Dirofilaria immitis* microfilariae, v. 26, n. 4, p. 160-72, 2011.

BUBLITZ, G.S.; SERAPIÃO, M. J.; ROBERGE, V.D. Dirofilariose humana em Joinville-SC: avaliação clinicopatológica dos primeiros casos relatados na região Sul. **J. Bras. Patol. Med.**, v. 48, n. 5, p. 383-389, 2012.

CAMPOS, J.R.M.; BARBAS, C.S.; FILOMENO, L.T et al. Human pulmonary dirofilariasis. Analysis of 24 cases from São Paulo, Brazil. **Chest.**, v. 112 n. 3, p. 729-33, 1997.

CARRETON, E.; MORCHÓN, R.; GONZALEZ, M.J. Utility of cardiac biomarkers during adulticide treatment of heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) in dogs. **Vet. Parasit.**, v. 18, n. 1-2, p. 244–250, 2013.

CAVALLAZZI, R.S.; CAVALLAZZI, A. C.; SOUZA, I.V. Dirofilariose pulmonar humana: relato de sete casos. **J. Pneumologia**, v. 28, n. 2, p. 100-102, 2002.

DILLON, A.R.; WARNER, A.E.; MOLINA, R.M. Pulmonary parenchymal changes in dogs and cats after experimental transplantation of dead *Dirofilaria immitis*, In: Proceedings of the heartworm symposium '95. American heartworm society, 1995, Batavia. **Anais...**Batavia, 1995, p. 97-101.

DILLON, A.R.; BRAWNER, W.; HANRAHAN, L. Influence of number of parasites and exercise on the severity of heartworm disease in dogs. In: Proceedings of the heartworm symposium '95. American heartworm society, 1995, Batavia. **Anais...** Batavia, 1995, p. 101-117.

GENCHI, C.; RINALDI, L.; MORTARINO, M. et al. Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. **Vet. Parasitol.** v. 163, p. 286–292, 2009.

GREENE, C.E. **Doenças Infecciosas de Cães e Gatos**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2015. 1897 p.

GUERRERO, J.; DUCOS DE LA HITTE, J.; GENCHI, C. Update on the distribution of *Dirofilaria immitis* in dogs from Southern Europe and Latin America. In: **Proceedings of the Heartworm Symposium'92**. American Heartworm Society, 1992, Batavia, Anais...Batavia, 1992, p. 31–37.

HOCH, H.; STRICKLAND, K. Canine and feline dirofilariasis: life cycle, pathophysiology, and diagnosis. **Compend. Contin. Educ. Vet.**, v. 30, n. 3, p. 133-40, 2008.

KITAGAWA, H.; SASAKI, Y.; ISHIHARA, K. et al. Contribution of live heartworms harboring in pulmonary arteries to pulmonary hypertension in dogs with Dirofilariasis. **Jpn. J. Vet. Sci.**, v. 52, n.6, p. 1211-1217, 1990.

KITOH, K.A.; OKA, A.; KITAGAWA, H. et al. Relaxing and contracting activities of heartworm extract on isolated canine abdominal aorta. **J. Parasitol.**, v. 87, n. 3, p. 522-526, 2001.

KOTANI, K.; POWERS, K.G. Developmental stages of *Dirofilaria immitis* in the dog. **Am. J. Vet. Res.**, v. 43, n. 12, p. 2199-2206, 1982.

KRONEFELD, M.; KAMPEN, H.; SASSNAU, R. Molecular detection of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Setaria tundra* in mosquitoes from Germany. **Parasit. & Vect.**, v. 7, n. 30, p. 2-6, 2014.

LOK, J.B.; KNIGHT, D.H. Laboratory verification of a seasonal heartworm transmission model. In: Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium '98. American Heartworm Society, 1998, Florida. **Anais ... Florida**, 1998, p. 15-20.

LUDLAM, K.W.; JACHOWSKI, L.A.; OTTO, G.F. Potential vectors of *Dirofilaria immitis*. **J. Am. Vet. Med. Ass.**, v. 157, n. 4, p. 1354-1359, 1970.

MCCALL, J.W.; SUPAKORNDEJ, N.; DONOGHUE, A.R. et al.. Evaluation of the performance of canine heartworm antigen test kits licensed for use by veterinarians and canine heartworm test kits conducted by diagnostic laboratories, In : Recent Advances in Heartworm Disease: **Symposium '01.American Heartworm Society**, 2001, Batavia, 2001, p. 97-104.

MOISE, N.S.; FOX, P.R. Echocardiography and Doppler imaging. In: FOX, P.R., SISSON D., NOISE N.S.: **Textbook of canine and feline cardiology**, 2ed. New York: Churchill Livingstone, 1999, p. 130-171.

NELSON, C.T.; MCCALL, J.W.; RUBIN, S.B. et al. Diagnosis, prevention and management of heartworm infection in dogs. 2010. Disponível em: <http://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/canine-guidelines.html> Acesso em: 27 outubro 2018.

NELSON, C.T.; MCCALL, J.W.; JONES, S. et al. Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworm (*Dirofilaria immitis*) Infection in Dogs, **Am. Heartworm Societ.**, p. 1-37, 2018.

OGAWA, G.M.; CRUZ, E.N.; CUNHA, P.N.A. et al. Canine heartworm disease in Porto Velho: first record, distribution map and occurrence of positive mosquitoes, **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 22, n. 4, p. 559-564, 2013.

PAMPLIGLIONE, S.; RIVASI, F.; PAOLINO, S. Human pulmonar dirofilariasis. **Histopathology**, v. 29, n. 6, p. 69-72, 1996.

PATTON, S.; FAULKNER, C.T. Prevalence of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* infection in dogs: 805 cases (1980-1989). **JAVMA**, v. 200, n. 10, p. 1533-1534, 1992.

PRAVEEN, K.; PREM, S.; CHANDOLIA, R.K. et al. Echocardiographic diagnosis of dirofilariasis in a dog. **Indian J. Vet. Sci.**, v. 33, n. 2, p. 153-155, 2012.

REIFUR, L.; THOMAZ-SOCCOL, V.; FERREIRA, F.M. Epidemiological aspects of filariosis in dogs on the coast of Paraná state, Brazil: with emphasis on *Dirofilaria immitis*. **Vet. Parasit.**, v.122, n. 1, p. 273-286, 2004.

RODRIGUES-SILVA. R.; GUERRA, R. J. A.; ALMEIDA, F.B. *Dirofilariase* pulmonar humana no Estado do Rio de Janeiro, Brasil: relato de um caso. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 37, n.1, p. 56-59, 2005.

SARTOR, A. A. ; CANAL, A.J.; BELLATO, V.; SOUZA, A.P. Diagnóstico sorológico da infecção por *Ehrlichia canis*, *Dirofilaria immitis* em cães do município de Lages,SC. In: **Jornada Acadêmica**, 2004, Florianópolis. Resumos dos trabalhos. Florianópolis: UDESC, 2004. v. 1. p. 26-26.

SARTOR, A. A.; VIEIRA, Leonardo ; SOUZA, Antonio Pereira de ; BELLATO, Valdomiro . Diagnóstico sorológico da infecção por *Ehrlichia canis*, *Dirofilaria immitis* e *Borrelia burgdorferi* em cães do Litoral de Santa Catarina. In: **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária 14. Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses 2.**, 2006, Ribeirão Preto. Programa - Resumos. Ribeirão Preto: CBPV, 2006. v. 1. p. 396-396.

SCOLES, G.A.; KAMBHAMPATI, S. Polymerase chain reaction-based method for the detection of canine heartworm (*Filaridea: Onchocercidae*) in mosquitoes (*Diptera:Culicidae*) and vertebrate hosts. **J. Med. Entomol.** v. 32, p. 864-869, 1995.

SILVA, R.C.; LANGONI, H. *Dirofilariose*: zoonose emergente negligenciada, **Cienc. Rur.**, vol.39, n.5, pp.1615-1624, 2009.

SIMÓN, F.; SILES-LUCAS, M.; MORCHÓN, R. et al. Human and animal *Dirofilariasis*: the emergence of a zoonotic mosaic. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 3, 507-544, 2012.

SOYDAN, L.C.; KELLIHAN, H.B.; BATES, M.L. Accuracy of Doppler echocardiographic estimates of pulmonary artery pressures in a canine model of pulmonary hypertension. **J. Vet. Cardiol.**, v. 17, n. 1, p. 13-24, 2015.

TAI, T.C.; HUANG, H.P. Echocardiographic assessment of right heart indices in dogs with elevated pulmonary artery pressure associated with chronic respiratory disorders, heartworm disease, and chronic degenerative mitral valvular disease. **Veterinarni Medicina**, v. 58, n. 12, p. 613–620, 2013.

VEZZANI, D.; CARBAJO, A.E. Spatial and temporal transmission risk of *Dirofilaria immitis* in Argentina. **Intern. J. Parasit.**, v. 36, n. 14, p. 1463-1472, 2006.

WATTS, K.J.; COURTNEY, C.H.; REDDY, G.R. Development of a PCR and probe-based test for the sensitive and specific detection of the Dog Heartworm, *Dirofilaria immitis*, in its mosquito intermediate host. **Mol. Cell. Probes**, v. 13, n. 6, p. 425-430, 1999.

WREGGE, M.S.; STEINMETZ, S.; JÚNIOR, C.R. et al. Atlas Climático da Região Sul. 2 ed. Pelotas: Embrapa. 2012. 334 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/.../1/Atlas-climatico-da-regiao-Sul-do-Brasil.pdf>. Acesso em: 27 de outubro de 2018.