

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**NÍVEIS SÉRICOS DE PROTEÍNA C-REATIVA EM CÃES  
COM ALTERAÇÕES OCULARES PRIMÁRIAS OU  
ASSOCIADAS A DOENÇAS SISTÊMICAS**

**LUÍS FELIPE FERNANDES REITER**

**BOTUCATU - SP  
SETEMBRO/2021**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**NÍVEIS SÉRICOS DE PROTEÍNA C-REATIVA EM CÃES  
COM ALTERAÇÕES OCULARES PRIMÁRIAS OU  
ASSOCIADAS A DOENÇAS SISTÊMICAS**

**LUÍS FELIPE FERNANDES REITER**

Dissertação apresentada junto ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia Animal para a obtenção do  
título de Mestre.

Orientadora: Profa. Assoc. Cláudia Valéria  
Seullner Brandão

Coorientadora: Profa. Assoc. Regina Kiomi  
Takahira

**BOTUCATU - SP  
SETEMBRO/2021**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Reiter, Luís Felipe Fernandes.

Níveis séricos de proteína C-reativa em cães com alterações oculares primárias ou associadas a doenças sistêmicas / Luís Felipe Fernandes Reiter. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Cláudia Valéria Seullner Brandão

Coorientador: Regina Kiomi Takahira

Capes: 50501003

1. Cães - Doenças. 2. Níveis séricos. 3. Oftalmologia.  
4. Inflamação. 5. Uveíte. 6. Proteína C-reativa.

Palavras-chave: Canina; Inflamação; Oftalmologia; Proteína de fase aguda; Uveíte.

Nome do autor: LUÍS FELIPE FERNANDES REITER

TÍTULO: NÍVEIS SÉRICOS DE PROTEÍNA C-REATIVA EM CÃES COM ALTERAÇÕES OCULARES PRIMÁRIAS OU ASSOCIADAS A DOENÇAS SISTÊMICAS

### COMISSÃO EXAMINADORA

---

**Prof<sup>a</sup> Assoc. Cláudia Valéria Seullner Brandão**

Presidente e Orientadora.

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal.

FMVZ/UNESP - Botucatu - SP.

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Natalie Bertelis Merlini**

Membro

Docente na Faculdade UNIPAR – Umuarama com ênfase em Clínica Veterinária.

Faculdade UNIPAR.

---

**Prof. Dr. Felipe Fornazari**

Membro

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva.

FMVZ/UNESP - Botucatu - SP.

**Data da Defesa: 27 de Setembro de 2021**

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar devo agradecer meus pais: Antonio Carlos Santos Reiter e Faine Del Carmen Fernandes Reiter por terem me apoiado de todas as formas possíveis desde o começo, não só na carreira profissional, como na vida.

Lívia, minha amiga, namorada, parceira e apoiadora em todos os momentos de minha vida, sem você simplesmente nada seria possível.

Agradeço minha orientadora, Cláudia Valéria Seullner Brandão, por me possibilitar a realização de um sonho em cursar um Mestrado Acadêmico em Oftalmologia Veterinária na Universidade em que me formei, é uma honra!

Regina Kiomi Takahira, professora e comadre, obrigado pela coorientação neste mestrado. Esta fase está sendo apenas mais uma etapa que passamos juntos. Aproveito para agradecer toda equipe do Laboratório Clínico Veterinário da FMVZ por todo auxílio e acolhimento que tive nesse setor durante o projeto, em especial à comadre Marcela, Rosinha e ao Marcos, que nos ajudou nas dosagens das CRP! Agradeço também a equipe do Serviço de Zoonoses do HV/FMVZ-Botucatu pelas sorologias realizadas em parceria neste estudo.

Muito obrigado ao Prof. Carlos Roberto Padovani pelo auxílio e dedicação nas análises estatística do estudo.

Aos docentes: Profa. Natalie Bertelis Merlini e Prof. Felipe Fornazari, obrigado por terem aceitado o convite para participarem da banca examinadora.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradeço pelo suporte financeiro concedido durante o Mestrado, principalmente no atual cenário político e econômico em que o país se encontra e à Pós-Graduação da FMVZ Unesp Botucatu pela atenção prestada durante todo o período.

Obrigado a equipe do Serviço de Oftalmologia Veterinária do HV/FMVZ-Botucatu pela ajuda e ensinamentos durante esses anos.

Aos meus amigos e amigas que sempre me demonstraram, não apenas apoio, mas empatia, carinho, amor, gratidão e igualdade nessa jornada, em especial ao João Luis Dias Baqui – mais que um colega – um amigo. Nesses dois anos, caminhamos juntos uma jornada profissional muito sonhada e me sinto muito feliz e grato em poder dividir esses momentos contigo, inclusive as

noites dedicadas a escutar discos de vinil e beber vinho durante sua hospedagem em casa no período dos seus PCRs.

Não posso deixar de agradecer minha família “do outro lado”, sem eles minha vida não teria sentido. Dessa forma, agradeço ao Babalorixá Salvador Maria, meu segundo pai, por ter proporcionado e me proporcionar momentos especiais e que jamais serão apagados do meu coração. Também agradeço à Lizete Rosa Lourenço e sua equipe pela qual eu possuo um carinho especial e um lugar guardado no meu coração por toda a eternidade, afinal, “o que está no coração não se apaga”. Ainda agradeço ao amigo Paulo Thiago Azevedo Quaresma de Moura pelo apoio e equilíbrio compartilhado.

Minha gratidão pela pequena Madalena, um serzinho de 4 patas que chegou na hora certa e pela Mel, minha grande companheira que por 18 anos conviveu comigo e se desligou da terra no último Dia dos Pais.

André Luis Filadelpho, muito obrigado por ter sido o primeiro professor com o qual me identifiquei no curso de Medicina Veterinária desta Universidade e que rendeu, além de trabalhos científicos, uma grande amizade também inesquecível.

Enfim, o meu muito obrigado a todos que de alguma forma me apoiaram!

**LISTA DE ABREVIATURAS**

AAQ	Alfa-1-antiquimiotripsina
AAT	Alfa-1-antitripsina
ACAID	Desvio Imune Associado à Câmara Anterior
AINE	Anti-inflamatório não esteroides
ALT	Alanina aminotransferase
APC	Célula apresentadora de antígeno
APG	Alfa-1 glicoproteína ácida
COX	Ciclo-oxigenase
CP	Ceruloplasmina
CRP	Proteína C-reativa
DDVMM	Doença degenerativa mixomatosa da válvula mitral
FA	Fosfatase alcalina
GGT	Gamaglutamiltransferase
HP	Haptoglobulina
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IL	Interleucina
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LOX	Lipoxigenase
LCV	Leishmaniose Visceral Canina
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PFA	Proteína de fase aguda
PIO	Pressão intraocular
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
RFA	Resposta de fase aguda
SAA	Amiloide sérica A
SAM	Soroaglutinação microscópica
SIRS	Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica

SST	Solução saturada
TGF	Fator de necrose tumoral
URE	Uveíte Recorrente Equina

**LISTA DE FIGURAS**

	<b>Página</b>
FIGURA 1 - Cão da raça Boxer apresentando secreção mucopurulenta, crostas e pigmentação corneal devido a ceratoconjuntivite seca. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária do HV-FMVZ/Botucatu.....	58
FIGURA 2 – Uveíte, hiperemia conjuntival, edema e vascularização corneal, <i>rubeosis iridis</i> , catarata hipermetura em cão da raça Fila Brasileiro reagente para <i>Ehrlichia</i> spp. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária do HV-FMVZ/Botucatu.....	58

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
CAPÍTULO 1	1
1. Introdução e Justificativa	2
2. Revisão da literatura.....	3
2.1 Úvea	3
2.2 Alterações oculares primárias	5
2.2.1 Ceratites ulcerativa	6
2.2.2 Ceratoconjuntivite seca	7
2.2.3 Proptose ocular	9
2.2.4 Protrusão da glândula da terceira pálpebra	9
2.2.5 Traumas	10
2.2.6 Procedimentos cirúrgicos	10
2.3 Alterações oculares secundárias	11
2.3.1 Toxoplasmose	11
2.3.2 Erliquiose	13
2.3.3 Leishmaniose	15
2.3.4 Leptospirose	17
2.4 Proteínas inflamatórias de fase aguda	18
2.4.1 Resposta de fase aguda - processo inflamatório	21
2.4.2 Proteína C-reativa	23
3. Referências	26
CAPÍTULO 2	45
INTRODUÇÃO	48
MATERIAIS E MÉTODOS	50
<i>Amostras</i>	50
<i>Método de coleta</i>	51
<i>Doenças infecciosas testadas</i>	52
<i>Técnica de detecção de toxoplasmose, leishmaniose e leptospirose</i>	52
<i>Técnica de detecção das hemoparasitoses</i>	52
<i>Método de dosagem da CRP</i>	53
<i>Critérios de exclusão</i>	53
<i>Análise estatística</i>	53
RESULTADOS	54
DISCUSSÃO	55

CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	60
Anexo 1 – Resultados de IgG e IgM para Toxoplasmose (IgG-T e IgM-T), IgG e IgM para Leishmaniose (IgG-L e IgM-L), de soroprecipitação microscópica para Leptospirose, hemoparasitoses e da dosagem de CRP dos animais do G1.	67
Anexo 2 – Resultados CRP dos animais dos grupos G2 e G3.	69

REITER, L. F. F. NÍVEIS SÉRICOS DE PROTEÍNA C-REATIVA EM CÃES COM ALTERAÇÕES OCULARES PRIMÁRIAS OU ASSOCIADAS A DOENÇAS SISTÊMICAS. Botucatu – SP. 2021. 81 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP.

## **RESUMO**

A proteína C-reativa (CRP) é uma importante proteína de fase aguda em cães e considerada um biomarcador precoce de lesões inflamatórias/infecciosas. Sua utilização está em ascensão na Medicina Veterinária em doenças como piometra, cardiopatia, doença periodontal e gastroenterites, porém em oftalmologia os estudos ainda são escassos. Este estudo comparou as concentrações séricas de CRP em cães com alterações oculares primárias às associadas a doenças sistêmicas, dentre elas a toxoplasmose, leishmaniose e erliquiose. Foram avaliadas 67 amostras sorológicas de cães distribuídas em 3 grupos. No G1 (n=23) - cães com alterações oculares secundárias a doenças sistêmicas testadas; G2 (n=22) - cães com alterações oculares primárias; G3 (n=22) - animais hígidos (controle) sem alterações oculares e negativos para as doenças sistêmicas testadas. Como resultados, houve diferença significativa ( $P < 0,001$ ) nas concentrações de CRP entre G1 e G2 e entre G1 e G3. A dosagem da CRP mostrou-se efetiva como marcador biológico de processo inflamatório ocular, principalmente quando este é secundário à doença sistêmica de origem infecciosa. A dosagem de CRP apresenta potencial para a aplicação na prática oftalmológica em cães.

**Palavras chave:** canina, inflamação, oftalmologia, proteína de fase aguda, uveíte.

REITER, L. F. F. SERUM LEVELS OF C-REACTIVE PROTEIN IN DOGS WITH PRIMARY OCULAR ALTERATIONS OR ASSOCIATED WITH SYSTEMIC DISEASES. Botucatu – SP. 2021. 81 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP.

### **ABSTRACT**

C-reactive protein (CRP) is an important acute-phase protein in dogs once it is considered an early biomarker of inflammatory / infectious lesions. Its use in veterinary medicine is rising in diseases such as pyometra, heart disease, periodontal disease and gastroenteritis. This study compared serum CRP in dogs with ocular diseases associated or not with systemic diseases, including toxoplasmosis, leishmaniasis and ehrlichiosis. 67 dogs' serological samples were divided into 3 groups: G1 - 23 dogs with ocular disorder secondary to confirmed systemic diseases; G2 - 22 dogs with primary eye disorders, negative disease tests; G3 - control group composed by 22 healthy dogs without ocular disorders nor systemic diseases. There was a statistically significant difference ( $P < 0.001$ ) between the CRP concentrations of G1 and G2 and between G1 and G3. The measurement of CRP was shown to be effective as a biological marker of ocular inflammatory process, especially when it is secondary to infectious origin systemic disease. CRP has potential application in ophthalmological practice in dogs.

**Keywords:** acute phase protein, canine, inflammation, ophthalmology, uveitis.

# CAPÍTULO 1

## 1. Introdução e Justificativa

Diversos estudos realizados desde décadas passadas valorizam o exame físico geral durante o atendimento médico veterinário como decisivo para um diagnóstico preciso de enfermidades sistêmicas e específicas, e sua elaboração habilidosa guia de forma eficiente a seleção de exames específicos, sendo mais frequentes os bioquímicos séricos e exames de imagem (LOW, 1971; HARDY, 1981). Contudo, Eckersall & Conner (1988) já indicavam que as dosagens de proteínas de fase aguda em cães, em especial a proteína C-reativa (CRP), apresentavam como importante vantagem o fato de serem marcadores precoces de lesões.

A CRP trata-se de um biomarcador produzido predominantemente no fígado em resposta às citocinas pro-inflamatórias do processo inflamatório (NAKAMURA, 2008). Apesar desta ser a mais estudada em cães (NAKAMURA, 2008), destaca-se que suas dosagens ainda não são frequentemente realizadas na rotina devido principalmente à escassez de estudos aprofundados sobre a sua concentração nas várias doenças (NAKAMURA et al., 2008); inclusive nas doenças oftalmológicas.

Casos de uveíte, na espécie canina, comumente ocorrem por doenças sistêmicas infecciosas tendo como agentes principais a *Ehrlichia* spp., *Leishmania* spp., *Babesia* spp., *Toxoplasma gondii* e fungos (HENDRIX, 2011). Isto ocorre devido à elevada taxa de fluxo sanguíneo na retina e úvea, o que possibilita a disseminação destes agentes (CULLEN & WEBB, 2013). Em cães, as causas mais comuns de uveíte de origem exógena incluem cirurgia intraocular, trauma, ceratite ulcerativa e feridas penetrantes (COLITZ, 2005; HENDRIX, 2011).

Na Medicina, a CRP foi descrita como indicadora da gravidade e do prognóstico de diversas doenças, como linfomas não-Hodgkin's e leucemia linfocítica crônica (PAVLIDIS et al., 1993), artrite reumatoide (JANSEN et al., 2001), carcinoma de células renais (KOMAI et al., 2006), e câncer colorretal avançado (READ et al., 2006).

A aplicabilidade desta proteína ainda está em ascensão na Medicina Veterinária, visando indicar a resposta ao tratamento e prognóstico em diversas doenças (OHNO et al., 2007; SIMÕES, 2016; CYRINO, 2020).

O diagnóstico etiológico preciso da uveíte em cães é imprescindível na prevenção da perda visual destes animais, pois trata-se de uma doença potencial causadora de cegueira na espécie (HENDRIX, 2014).

A utilização das proteínas de fase aguda (PFA) em comparação à análise do leucograma objetivando avaliação de processos inflamatórios/infecciosos apresenta como vantagens sua maior estabilidade em contraste a análise dos componentes celulares sanguíneos e menor influência de estímulos fisiológicos passageiros, como ocorre no caso de recrutamento de leucócitos marginais; além da possibilidade do congelamento do material (MARTÍNEZ-SUBIELA et al., 2001).

A hipótese do trabalho foi identificar maior nível sérico de CRP nos cães apresentando uveítes com doenças sistêmicas infecciosas concomitantes quando comparado a cães portadores de lesões oculares primárias ou sem lesão. A escassez de relatos na literatura, especialmente na área da oftalmologia, a respeito de dosagens da CRP em cães acometidos por uveíte, estimulou seu desenvolvimento, uma vez que pode ser aplicável como uma importante ferramenta diagnóstica nos casos desafiadores dessa afecção comum em cães.

O objetivo foi comparar os níveis de CRP entre cães com alterações oculares primárias ou secundárias às doenças sistêmicas e animais hígidos.

## **2. Revisão da literatura**

### **2.1. Úvea**

A úvea, também denominada túnica vascular do olho, é composta pela íris, corpo ciliar e coróide. Sua inflamação, uveíte, ocorre quando todas ou alguma combinação destas estruturas são afetadas e, comumente, ocorre em conjunto com várias doenças intraoculares e sistêmicas (HENDRIX, 2011).

A íris é composta por três camadas: a camada da borda anterior, que consiste em fibroblastos e melanócitos; o estroma, o qual possui fibras colágenas dispostas frouxamente com fibroblastos e cromatóforos; e o epitélio posterior, que é contínuo com o epitélio do corpo ciliar (SAMUELSON, 1999).

O corpo ciliar é composto pela pars plicata anterior, o qual consiste em processos ciliares e vales intermediários nos quais a lente se fixa, através das zônulas lenticulares (tanto no cão como no gato) e a pars plana posterior. A

acomodação do cristalino é dada pelo músculo ciliar, pouco desenvolvido no cão e no gato em comparação com humanos. O epitélio não pigmentado do corpo ciliar – contínuo com a retina sensorial - é responsável pela produção do humor aquoso e o epitélio pigmentado do corpo ciliar é contínuo com o epitélio pigmentado da retina (GUM et al., 1999).

A coroide é a estrutura altamente vascularizada responsável pela nutrição e termorregulação da retina metabolicamente ativa. É constituída por coriocapilares, uma camada de tamanho médio com o tapete, camadas de vasos grandes e suprecoroidea (GUM et al., 1999).

Alguns autores defendem que, antigamente, a introdução de tecidos estranhos nas câmaras oculares, quando comparado a outros sistemas, estimulava uma resposta de rejeição tardia, mínima ou ausente (STREILEIN et al., 2002; ENGLISH & GILGER, 2013). Estes mesmos autores citam que, atualmente, ocorre um processo ativo e dinâmico arranjado por moléculas e células específicas. Este fenômeno consiste numa maneira especializada de adaptação ocular às injúrias inflamatórias objetivando-se a preservação das funções, evitando assim consequências deletérias, como cicatrizes, adesões, pigmentações (STREILEIN et al., 2002; ENGLISH & GILGER, 2013).

A natureza da inflamação destas estruturas oculares relaciona-se diretamente com a elevada vascularização do tecido, sua sensibilidade imunológica e sua proximidade anatômica com outras estruturas. A uveíte, semelhante à inflamação em outros tecidos, consiste em três eventos básicos: elevado suprimento sanguíneo, aumento da permeabilidade vascular e migração de leucócitos para o local da lesão (HENDRIX, 2013).

Três nomenclaturas são utilizadas para distinguir, anatomicamente, o processo inflamatório da túnica vascular. A inflamação da íris e do corpo ciliar é denominada uveíte anterior ou iridociclite. Já a inflamação da coroide, é definida por uveíte posterior ou coroidite. Caso os três componentes da úvea sejam afetados, o processo denomina-se panuveíte. O termo uveíte anterior é amplamente utilizado na rotina clínica devido à inflamação da íris e do corpo ciliar ocorrerem, com frequência, simultaneamente; caso estes estejam individualmente inflamados, irite e ciclite são as nomenclaturas empregadas, respectivamente (HENDRIX, 2011).

Hendrix (2013) afirma que a etiopatogenia da uveíte na espécie canina pode ser secundária à alterações em cristalino, doenças na córnea, como ceratites ulcerativas ou lesões em esclera, sendo assim, associada a uma lesão ocular primária ou ser secundária a neoplasias, agentes infecciosos ou imunomediada. A divisão da etiologia do processo inflamatório pode ser definida como sendo endógena ou exógena.

Causas de uveíte endógenas são aquelas que se originam dentro da estrutura ocular ou a afetam por meio da corrente sanguínea ou de estruturas contíguas. Essas etiologias são as responsáveis pela maioria dos casos de uveíte, incluindo infecções sistêmicas, neoplasias, agentes tóxicos, metabólicos e doenças autoimunes. (HENDRIX, 2013).

As causas exógenas de uveíte incluem traumas, procedimentos cirúrgicos, lesões perfurantes ou contundentes além de poderem estarem associadas a infecções secundárias (COLITZ, 2005; HENDRIX, 2013).

Embora existam diversas causas de uveíte nos cães, a sequência dos eventos inflamatórios é similar independentemente da etiologia (SHUKLA & PINARD, 2012).

Os sinais clínicos de uveíte anterior são numerosos, inespecíficos e dependentes da causa. Comumente incluem-se hiperemia conjuntival, flare, edema corneano, diminuição da pressão intraocular (PIO), hifema, precipitados ceráticos, hipópio, blefaroespasma, miose, epífora, irregularidade na superfície da íris e mudança na coloração da mesma, neovascularização (rubeosis iridis) além da diminuição ou perda da acuidade visual (COLITZ, 2005; TOWNSEND, 2008).

## **2.2. Alterações oculares primárias**

Entende-se por alteração ocular primária aquela que não possui uma influência sistêmica por agentes infecciosos, metabólicos, autoimunes, neoplásicos, mas sim causada por fatores externos como traumas, procedimentos cirúrgicos, ceratoconjuntivites imunomediadas e lesões perfurantes ou não perfurantes (COLITZ, 2005).

### 2.2.1. Ceratites ulcerativas

A córnea saudável, estrutura localizada no polo anterior do bulbo ocular, juntamente com a lente, é provida de uma propriedade anatômica única, a transparência. Esta permite a entrada de luz em direção ao eixo visual, uma vez que há ausência de vasos sanguíneos, pigmentos e queratinização do epitélio superficial, baixa densidade celular e regularidade no arranjo das fibras de colágeno no estroma (SAMUELSON, 1999; MAGGS, 2008). Além da transparência, a córnea normal é uma superfície lisa, lustrosa e altamente resistente a deformações e traumas (TOWNSEND, 2009; KIERSZENBAUM & TRES, 2012).

Histologicamente, em corte transversal, Junqueira & Carneiro (2004) descreveram a córnea em cinco camadas teciduais: epitélio, estroma, membrana de Descemet e endotélio. A presença da cápsula de Bowman, anatomicamente localizada entre o epitélio e o estroma, é variada dentre os vertebrados (SHIVELY & EPLING, 1970). O mesmo autor afirma que a cápsula de Bowman encontra-se intimamente ligada ao estroma, podendo ser considerada como constituinte dele. A córnea canina, desprovida da cápsula de Bowman bem definida, apresenta espessura de 1 a 2  $\mu\text{m}$  (DIESEM, 2006).

A ulceração em córnea é uma ocorrência comum no atendimento médico veterinário e pode ter consequências que afetam a integridade total do bulbo ocular, uma vez que a espessura da córnea é inferior a 1 mm e é definida como uma quebra ou ruptura do epitélio corneano (POWELL, 2001; MAGGS, 2008). A inflamação corneal causada por uma úlcera pode desencadear um espasmo ciliar e um processo de iridociclite reflexa – uveíte anterior – devido ao compartilhamento anatômico dos vasos límbicos, estimulação da inervação sensitiva da córnea e, conseqüentemente, um aumento da vascularização da íris (KERN, 1990; SLATTER, 2005).

De acordo com Maggs (2008), as causas mais comumente associadas a ceratites ulcerativas consistem em fatores que diminuem mecanismos de proteção como ceratoconjuntivite seca, deficiências qualitativas do filme lacrimal, meibomites, disfunções palpebrais como lagofthalmia e paralisia dos nervos facial e trigêmeo, além de fatores que culminam em excesso de abrasão, como entrópio, distiquíase, cílios ectópicos, triquíases, tumores palpebrais e blefarites e fatores externos como traumas, corpo estranho e fatores irritantes.

Após sofrer uma agressão, a córnea sofre adaptações protetoras semelhantes à pele, com a qual divide a mesma origem embrionária, como queratinização, pigmentação e vascularização, tornando-se opaca (WILCOCK, 2008).

Manifestações agudas de inflamação corneal após uma agressão estão relacionadas a processos ulcerativos. Como a córnea é avascular, esta não pode sofrer um processo inflamatório até que haja envolvimento de vasos sanguíneos, uma vez que a inflamação é um processo vascular. Sendo assim, a reação inflamatória perante uma injúria corneal ocorre, primeiramente, no leito vascular disponível mais próximo, normalmente do limbo. Vasos sanguíneos da íris e conjuntiva podem participar da resposta inflamatória dependendo do grau de difusão dos mediadores inflamatórios. No local da lesão há migração de neutrófilos através dos vasos límbicos e conjuntivais. Em casos de contaminação bacteriana ou fúngica esta migração pode ser aumentada (WILCOCK, 2008).

### **2.2.2. Ceratoconjuntivite seca**

O filme lacrimal pré corneano é composto por três distintas camadas: lipídica, aquosa e mucoide (BAUNGARTEN et al., 2008).

A camada lipídica, mais externa, é composta por ésteres graxos e colesterol, sendo produzida pelas glândulas de meibômio (glândulas tarsais) e pelas glândulas de Zeiss e possui como função retardar a evaporação da camada aquosa (CABRAL et al., 2005).

A camada intermediária é constituída pela parte aquosa, produzida pela glândula lacrimal principal (75%) e pela glândula da terceira pálpebra (25%) e é composta, principalmente, por glicose, sais inorgânicos, proteínas, glicoproteínas e ureia (OHASHI et al., 2006). Sua função é remover corpos estranhos e manter a atividade óptica da córnea (TAFFAREL et al., 2002).

A camada interna é constituída pela mucina, produzida pelas células caliciformes da conjuntiva e tem como função auxiliar a porção aquosa a se fixar na superfície ocular, tornando-a hidrofílica, o que resulta em maior hidratação (OHASHI et al., 2006).

A ceratoconjuntivite seca ou olho seco é uma enfermidade ocular resultante da deficiência da porção aquosa do filme lacrimal (deficiência quantitativa) ou decorrente da produção inadequada da camada lipídica, resultando na

evaporação excessiva da lágrima (deficiência qualitativa). Essa enfermidade é responsável por ocasionar mudanças inflamatórias progressivas na córnea e conjuntiva que, dependendo da gravidade, pode ocasionar cegueira (RIBEIRO et al., 2008).

A etiologia da enfermidade não é exata. Possíveis causas de ceratoconjuntivite seca são anomalias congênitas, infecções locais, traumas, inflamação crônica da glândula lacrimal, efeitos tóxicos de fármacos além de causas idiopáticas, neurogênicas e processos autoimunes com predileção racial nos cães da raça Cocker Spaniel (LAUS, 2008).

Tanto a conjuntiva como a glândula lacrimal, abundantes em plasmócitos, linfócitos T (maioria CD8), linfócitos B e vasos sanguíneos, são capazes de desenvolverem respostas inflamatória e imune intensas (YAMAMOTO et al., 2006).

A inflamação crônica da superfície ocular, nestes casos, é definida, por alguns autores, como sendo secundária à lesão das células epiteliais, causada pela deficiência no filme lacrimal e abrasão conjuntival pelas pálpebras (JONES et al., 1994; BRIGNOLE et al., 2000).

Avunduk et al. (2003) admitem que a inflamação da conjuntiva presente na ceratoconjuntivite seca é primária na patogênese da enfermidade, uma vez que após a utilização de lacrimomiméticos e AINEs não se observou a redução da expressão de marcadores inflamatórios na conjuntiva, apenas regressão dos sinais clínicos da enfermidade.

Entretanto, em ceratoconjuntivite seca humana foram observados infiltrados linfocitários em biópsias incisionais da glândula lacrimal com predominância de linfócitos T (maioria CD4+) (JABS et al., 2001). Stern et al. (2002) defendem que a presença dessas células contribui para disfunção e eventual destruição da glândula lacrimal, devido à liberação de citocinas pró-inflamatórias.

No que se refere às citocinas mediadoras e reguladoras de processos imune e inflamatório na ceratoconjuntivite seca, destacam-se a interleucina 1 (IL-1) e a interleucina 6 (IL-6) como mediadores da resposta inflamatória de fase aguda, estimulando a síntese de proteínas de fase aguda e a proliferação celular de linfócitos T (GRÖNE et al., 1998; ABBAS & LICHTMANN, 2005).

### **2.2.3. Proptose ocular**

Por definição, proptose ocular é o deslocamento súbito anterior do bulbo ocular com simultâneo encarceramento pelas pálpebras atrás da região do equador (GELATT, 2003). Dentre as causas mais comuns de ocorrência podem ser citadas traumas, problemas dentários, corpos estranhos, neoplasias e predisposições raciais (SMYTHE, 1956; COTTRELL, 1989; BONAGURA, 2000; MANDELL, 2000; GELATT, 2003).

Slatter (1990) defende que casos de proptose ocular requerem assistência emergencial por oclusão venosa por compressão palpebral resultando em glaucoma congestivo por estase venosa, além de poder ocorrer necrose em córnea, úlceras em córnea por exposição, irites, coriorretinites, descolamento de retina, luxação de lente e estrabismo.

Brandão et al. (2005) em estudo retrospectivo com 45 cães vítimas de proptose ocular observaram que as complicações mais comuns associadas ao quadro foram ceratite ulcerativa, estrabismo, hifema, quemose, hiperemia, hemorragia de conjuntiva e periocular, ressecamento e opacidade da córnea além de fratura nos ossos da face.

### **2.2.4. Protrusão da glândula da terceira pálpebra**

Presente na maioria dos animais, exceto em macacos, serpentes e na maioria dos peixes, a terceira pálpebra – também denominada membrana nictitante – é uma estrutura localizada no canto medial interno do olho, entre a córnea e a pálpebra inferior, em cães. Sua função, além de proteção do olho, é produzir, através da glândula localizada em seu interior, parte da camada aquosa do filme lacrimal e distribuí-lo (HERRERA, 2005; HAMOR, 2007; CUNHA, 2008).

Também conhecida por *cherry eye*, é uma afecção que acomete principalmente filhotes de cães com menos de 1 ano de idade frequentemente observada em raças braquicefálicas (MOORE, 1998).

Hammor (2007) defende que a etiologia da alteração se relaciona com a frouxidão nas fixações do tecido conjuntivo entre a terceira pálpebra e os tecidos periorbitais. O mesmo autor acredita que é um defeito anatômico com influências genéticas.

Hedlund (2008) associa a patologia à adenite primária ou secundária, anormalidades de adesão facial ou a patógenos específicos que comprometem a glândula.

Clinicamente esta alteração apresenta-se como uma massa avermelhada no canto medial do olho, com sinais inflamatórios de hiperemia, epífora, hipertrofia glandular, secreção purulenta e conjuntivite (WARD, 1999).

### **2.2.5. Traumas**

Lesões oculares traumáticas são a causa frequente do atendimento oftálmico em cães sendo, na maioria das vezes, a causa das úlceras de córnea podendo resultar em perfuração ocular (MAZZI, 2018). Uma ferida penetrante consiste naquela na qual há rompimento parcial de um tecido indo em direção a outro. Já a ferida perfurante consiste numa interrupção total da espessura do tecido (CAMERON, 2006).

Galera et al. (2017) identificaram como causas das perfurações oculares na espécie canina: mordeduras, arranhaduras, perfurações por corpos estranhos além de complicações de quadros de ceratoconjuntivite seca. Os mesmos autores definiram achados condizentes com processo inflamatório nos bulbos perfurados de animais submetidos a enucleação como hiperplasia epitelial em córnea, edema corneal, neovascularização corneal superficial e profunda, hifema e infiltrado neutrofílico e linfoplasmocítico.

Histologicamente em um trauma perfurante-penetrante agudo ou subagudo há presença de edema nas bordas da ferida e, na interrupção tecidual, oclusão por um plug de fibrina (TURNER, 2010).

### **2.2.6. Procedimentos cirúrgicos**

Processos inflamatórios como a endoftalmite ocorrem após trauma ocular, ceratites ulcerativas, secundários a infecções perioculares, ou após cirurgias oculares de forma geral, principalmente as intraoculares, sendo resultado do rompimento da barreira hematoaquosa, permitindo o acesso de agentes infecciosos (VALLE et al. 2010).

Na endoftalmite após cirurgias oculares agudas, relata-se como principais microorganismos envolvidos o *Staphylococcus* coagulase-negativos, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* grupo *viridans* e, em menor proporção,

outros cocos gram-positivos e bacilos gram-negativos. Em casos tardios, os patógenos envolvidos são de baixa virulência, como *Propionibacterium acnes*, algumas espécies de *Streptococcus* sp. e fungos (READ, 2011).

Comparativamente com a oftalmologia humana, poucos relatos sobre uveítes e endoftalmítes secundários a processos cirúrgicos são descritos na oftalmologia veterinária. Bohigian & Olk (1986) descreveram procedimentos cirúrgicos oculares como causadores de endoftalmite em humanos entre 60-66% dos casos. Clinicamente, os pacientes possuíam hiperemia conjuntival, hipópio, edema corneal, quemose, edema palpebral, secreção e diminuição da acuidade visual.

Na Medicina Veterinária, Estanislau et al. (2015) relataram um caso de endoftalmite bacteriana severa bilateral em cão após facectomia intracapsular devido à luxação anterior e subluxação da lente, respectivamente nos bulbos direito e esquerdo. Como sinais clínicos observou-se hipópio severo nos dois bulbos oculares, com intensa hiperemia, blefaroespasma, secreção purulenta no olho direito, bem como hipópio moderados e úlcera em *melting* no bulbo ocular esquerdo.

### **2.3. Alterações oculares secundárias**

Assim como defendido por Hendrix (2013), as neoplasias, agentes tóxicos, metabólicos, doenças autoimunes e infecções sistêmicas são as responsáveis pela maioria dos casos de uveíte na espécie canina. O mesmo autor afirma que as manifestações oculares desencadeadas por doenças sistêmicas consistem, frequentemente, em infecções por *T. gondii*, *Ehrlichia* spp., *Leishmania* spp., *Babesia* spp., e fungos (HENDRIX, 2011).

#### **2.3.1. Toxoplasmose**

A toxoplasmose é uma coccidiose zoonótica causada pelo protozoário *T. gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) de caráter mundial que afeta os animais homeotérmicos (ACHA & SZYFRES, 1995; ULMAN et al., 2008). Os felídeos domésticos e silvestres – hospedeiros definitivos da doença – eliminam os oocistos nas fezes, que após esporularem tornam-se infectantes e são a única fonte de infecção dos animais herbívoros (ULMAN et al., 2008). O ciclo extraintestinal, ou seja, aquele no qual há proliferação de taquizoítos nos órgãos

e desenvolvimento de cistos teciduais, ocorre em suínos, caprinos, ovinos e roedores. Uma vez viáveis, os cistos são infectantes tanto para os felinos como para os hospedeiros intermediários, como os seres humanos e cães. Os cães, para se infectarem, ingerem os oocistos presentes no solo (ou alimentos de origem vegetal) ou através dos cistos teciduais presente na carne de animais contaminados (SPARKES, 1998). A transmissão congênita pode ocorrer quando a infecção aguda coincide com a prenhez (VANDERWAGEN et al., 1974).

SALB et al. (2008) ressaltaram a importância dos cães acometidos pela doença como sentinelas para avaliação da contaminação ambiental uma vez que, se há uma elevada soropositividade em determinada região, o ambiente em que estes animais vivem provavelmente está contaminado por oocistos ou pelo alimento ofertado a eles. Este alimento, carne crua ou mal-cozida, contendo os cistos do parasita, podem, inclusive, ser a mesma fonte alimentar de humanos.

A manifestação clínica da doença varia conforme a imunocompetência do animal, carga parasitária infectante do microrganismo e doenças concomitantes sendo que, os órgãos mais afetados pelo protozoário incluem os olhos, cérebro, pulmão, fígado e músculos esqueléticos (AZEVEDO, 2017).

Apesar dos estudos neste assunto serem escassos, a toxoplasmose destacou-se como uma importante doença causadora de uveíte em estudo realizado por Rodrigues (2020), no qual se observou dentre 75 cães com alterações oculares que 52% foram reagentes para as imunoglobulinas IgM e IgG, por meio de Reação de Imunofluorescência Indireta. Dentre estes, 72% apresentaram anticorpos da classe IgG e 87% para a classe IgM.

Chavikin et al. (1994) afirmam que a uveíte secundária à toxoplasmose é, geralmente, induzida por citólise decorrente da replicação da forma taquizoíta do parasita e pela deposição intraocular de imunocomplexos, assim como migração para os olhos de linfócitos B e plasmócitos sensibilizados produzindo assim, anticorpos.

Em estudo realizado por Abreu et al. (2001) no qual se realizou infecção experimental de diferentes cepas de *T. gondii* em cães jovens e então avaliação de sinais clínicos, análises clínicas e a correlação entre os títulos de anticorpos obtidos, observou-se em exame de fundoscopia ocular, áreas de hiperrefletividade, papiledema, edema perivascular e exsudato peripapilar bilateral. Neste mesmo trabalho notou-se alterações no perfil bioquímico de

proteína total, albumina e glicose porém, os autores relataram a restrição de estudos que analisam exames hematológicos e perfis bioquímicos da infecção toxoplásmica canina dificultando assim, avaliações comparativas de resultados obtidos.

### 2.3.2. Erliquiose

Em diferentes regiões do Brasil as doenças transmitidas por carrapatos possuem grande impacto na saúde animal dada a ampla distribuição das hemoparasitoses no Brasil (COSTA et al., 2015; GOTTLIEB et al., 2016). O principal vetor das hemoparasitoses no Brasil é o carrapato da espécie *Rhipicephalus sanguineus* – popularmente conhecido por carrapato vermelho do cão - transmissor dos agentes etiológicos como *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli*, *Babesia spp*, *Rangelia vitalii*, *Rickettsia spp*, *Hepatozoon canis* e *Bartonella vinsonii* (SANTOS et al., 2009; ARAES-SANTOS et al., 2015; GUEDES et al., 2015).

A erliquiose canina é uma doença transmitida por carrapatos tendo como agente etiológico a bactéria *Rickettsia Ehrlichia canis* – bactéria gram-negativa intracelular obrigatória com tropismo por células hematopoiéticas - e é mundialmente distribuída, principalmente em áreas tropicais e subtropicais (GOLDMAN et al., 1998; SKOTARCZAK, 2003; GAFF et al., 2013). Sua primeira descrição é datada de 1935 em Algeria (DONATIEN & LESTOQUARD, 1935). Embora a *E. canis* seja a espécie com a maior distribuição mundial, outras espécies do mesmo gênero são causadoras da doença: *E. chaffeensis*, *E. muris*, *E. ruminatum* e *E. ewingii* (LITTLE, 2010).

Os cães acometidos pela erliquiose possuem uma grande variedade de sinais clínicos, podendo se categorizar a doença em fase aguda (1-3 semanas), subclínica (média de 11 semanas) e crônica (SKOTARCZAK, 2003). Os sinais clínicos mais descritos consistem em depressão, letargia, perda de peso, anorexia, pirexia, linfadenomegalia, esplenomegalia e sinais oculares (BREITSCHWERDT, 1995). As lesões oculares, segundo Martin (1999), são uma característica comum da erliquiose canina e podem estar presentes em todas as fases da doença, embora sejam dependentes da severidade da enfermidade e não ocorrem em todos os pacientes.

As lesões nos tecidos oculares em cães com o diagnóstico confirmado de erliquiose ocorreram em aproximadamente 37% dos casos, segundo estudo de Leiva et al. (2005).

As lesões oftalmológicas secundárias podem ser encontradas em quase todas as estruturas oculares, incluindo conjuntivites, petéquias/equimoses em íris e/ou conjuntiva, edema corneal, panuveíte, hifema, glaucoma secundário, neurite óptica, hemorragias retinianas e descolamento de retina (COLLINS & MOORE, 1991; BREITSCHWERDT, 1995). Leiva et al. (2005) destacaram que as principais lesões oculares encontradas em seu estudo retrospectivo com 46 cães acometidos pela erliquiose foram a panuveíte e descolamento de retina. Os mesmos autores ressaltam que 11 cães dos 46 estudados (23,9%) apresentavam apenas lesões oculares como queixa pelos tutores e não possuíam sinais sistêmicos identificáveis da doença pelo exame físico e clínico-patológico, o que consolida a importância dos sinais oculares como, muitas vezes, o único sinal clínico identificável, além da possibilidade da erliquiose estar se apresentando sob a forma subclínica.

Como mecanismo da patogenia e subsequente sangramento intraocular causado pela erliquiose, sugere-se envolvimento da hiperviscosidade sanguínea, elevação da pressão oncótica, vasculite e disfunção plaquetária (HARRUS et al., 1998).

Os efeitos da hiperviscosidade sérica favorecem a tendência ao sangramento por meio da interferência física com plaquetas e fatores de coagulação sanguínea, danos ao endotélio vascular e estase venosa (HARRUS et al., 1998). Clinicamente os efeitos da hiperviscosidade refletem em dilatação e tortuosidade dos vasos sanguíneos retinianos, sangramento tanto em segmento anterior como posterior além do descolamento da retina (BREITSCHWERDT, 1995). O hifema e retinopatia hipertensiva, nesses casos, podem estar secundariamente associados aos fatores de alterações isquêmicas promovidas pela hiperviscosidade e elevação da pressão oncótica (CURTIS et al.; 1991).

Ainda se ressalta a importância da deposição de imunocomplexos nas paredes dos vasos oculares como causa de lesões oftálmicas (PANCIERA et al., 2001).

As alterações hematológicas comumente associadas à erliquiose, segundo Breitschwerdt (1995) incluem trombocitopenia, anemia e leucopenia discretas durante o estágio agudo, trombocitopenia discreta no estágio subclínico, e pancitopenia no estágio crônico grave, enquanto no perfil bioquímico, as alterações mais comuns foram a hipoalbuminemia e hiperglobulinemia, associadas a resposta imune exacerbada e hiperviscosidade sérica (WOODY & HOSKINS, 1991).

A anemia, nos quadros de erliquiose, relaciona-se a diversos mecanismos, incluindo hemólise, hipoplasia ou aplasia medular após supressão de citocinas da hematopoiese na medula óssea (DE TOMMASI et al., 2014). Já a trombocitopenia, que muitas vezes contribui para quadros de sangramento em cães com doença aguda ou crônica, está associada à diminuição na produção das plaquetas, ao sequestro das mesmas, aumento do consumo e ainda à redução da migração plaquetária por aumento da secreção inibitória pelos linfócitos expostos aos patógenos (LITTLE, 2010).

Pancieria et al. (2001), em estudo histopatológico ocular em cães portadores de erliquiose, observaram como infiltrados inflamatórios predominantes o linfocítico, monocítico e plasmocítico sendo que as estruturas mais acometidas pela inflamação tanto em prevalência como intensidade foram, respectivamente, o corpo ciliar, coróide, íris e retina.

### **2.3.3. Leishmaniose**

O agente etiológico da leishmaniose, descoberto e descrito por William Boog Leishman e Charles Donovan em 1903 – em humanos - é um protozoário do gênero *Leishmania* (LEISHMAN, 1903). Contudo, no Brasil, a leishmaniose canina foi observada por Evandro Chagas a partir da demonstração da existência da doença no homem e no cão e a infecção do flebótomo *Lutzomyia longipalpis*. O parasita foi, então, classificado como *Leishmania chagasi* (CHAGAS, 1936; CHAGAS et al., 1938).

A distribuição geográfica da doença abrange todos os continentes, com exceção da Antártica e Oceania (WHO, 1990) e a notificação obrigatória de casos positivos para leishmaniose no Brasil começou em 1978 (FUNASA, 1999).

Lewis (1971) definiu que as *Leishmanias* spp são transmitidas aos animais e ao homem pela picada do inseto da ordem Díptera e família Psychodidae,

denominados popularmente por flebótomos por pertencerem ao gênero *Phlebotomus*; insetos presentes na Europa. Já na América Central e América do Sul a espécie transmissora da leishmaniose visceral canina (LVC) é a *Lutzomyia longipalpis* (GONTIJO & MELO, 2004).

Os sinais clínicos nos cães acometidos são bem documentados, apesar de inespecíficos, e incluem apatia, anorexia, perda de peso, dermatopatias (descamações, úlceras, pústulas, alopecia, onicogribose), artropatias como poliartrite e nefropatias (CIARAMELLA et al., 1997).

Os sinais oculares são frequentes na leishmaniose canina e incluem ceratoconjuntivite seca (PEÑA et al., 2000), uveíte (ANDRADE et al., 2009) e coriorretinite (BRITO et al., 2010). Contudo, diferentemente dos sinais da erliquiose canina descritos anteriormente, a manifestação ocular não é a queixa principal dos tutores uma vez que ocorrem, majoritariamente, associadas aos outros sinais sistêmicos da doença (PEÑA et al., 2000).

A patogenia das alterações oculares na doença não é completamente estabelecida. A presença do parasita no local da lesão justifica o padrão inflamatório sendo frequente o padrão linfoplasmocítico, principalmente na conjuntiva dos cães, provavelmente pela atividade linfóide que o tecido possui (BRITO et al., 2010). O mesmo autor sugere como mecanismo fisiopatológico das lesões oculares a formação de imunocomplexos, também responsáveis por lesões vasculares periféricas - pontas de orelhas, cotovelos, coxins plantares – além da produção de anticorpos a partir do estímulo antigênico das formas amastigotas.

O depósito de imunocomplexos em estruturas oculares pode ser o desencadeador dos sinais de lesões oculares como blefarite, ceratoconjuntivite, edema de córnea, formação de sinéquias, lesões em corpo ciliar e íris, uma vez que há presença de anticorpos específicos para *Leishmania* em vários tecidos intraoculares, podendo significar lesões de origem imunopatológica (GARCIA-ALONSO et al., 1996; CIARAMELLA et al., 1997; FERRER, 1999; BRITO et al., 2010).

Eguchi et al. (2017) relataram um caso de ceratoconjuntivite nodular em leishmaniose canina após apresentação clínica de nódulo bilateral em conjuntiva bulbar (região de limbo) e em terceira pálpebra além de linfadenomegalia em linfonodos pré-escapulares e poplíteos. Após realização de punções aspirativas

por agulha fina do nódulo conjuntival e de terceira pálpebra foram identificadas formas amastigotas de *Leishmania spp.*, intracitoplasmáticas e livres.

Em relação à produção de citocinas inflamatórias na LVC, tanto a IL-10 como a TGF- $\beta$  estiveram presentes em animais sintomáticos e assintomáticos em estudo de Corrêa et al. (2006). Destaca-se a IL-6, como um dos mais importantes mediadores de resposta inflamatória aguda, produzida em níveis mais expressivos em animais com leishmaniose em comparação a animais não infectados (LIMA & PEIRÓ, 2006).

#### **2.3.4. Leptospirose**

A leptospirose é uma antroponose direta causada por bactérias espiroquetas do gênero *Leptospira spp.* (GREENE et al., 2006), que acomete diversas espécies de animais domésticos e silvestres, de forma aguda ou crônica (LEMOS et al., 2012), podendo resistir no meio ambiente por até 180 dias, em condições adequadas para sua sobrevivência (PICARDEAU, 2013; POLACHINI & FUJIMORI, 2015).

Esta doença é classificada por Mascoll et al. (2016) entre aquelas relacionadas ao saneamento ambiental inadequado, associada ao crescimento desordenado dos centros urbanos, falta de saneamento básico, migrações, e acúmulo de lixo, fatores estes que favorecem o crescimento da população de roedores (reservatórios naturais da doença) (LIMA et al., 2018), enquanto os cães são considerados animal sentinela no ciclo biológico da leptospirose (BIER et al., 2013; ORNELLAS, 2017).

Os sinais clínicos da doença variam de acordo com a faixa etária, imunidade e virulência do sorovar, sendo que os casos menos graves exibem febre, anorexia, desidratação, vômito e apatia; e a forma crônica não é aparente, levando à insuficiência renal crônica, uma vez que a doença se mantém nos túbulos renais dos hospedeiros (SANTIM et al., 2006).

A microaglutinação (microscopic agglutination test – MAT) é a prova diagnóstica de referência para a leptospirose canina, realizada com antígenos vivos e objetivando detectar anticorpos nos soros dos indivíduos (HARRMAN et al., 1984).

Foi relatado por Polachini & Fujimori (2015), transmissão conjuntival de leptospirose entre a urina de um cão positivo para a doença e uma pessoa, durante a contenção física do paciente.

Em cães, juntamente com outros agentes infecciosos, a *Leptospira spp.* é uma causa de uveíte (SLATTER, 2005), e a sintomatologia ocular pode se manifestar como lacrimejamento, descarga ocular mucopurulenta, reflexos pupilares diminuídos, conjuntivite, panuveíte, injeção escleral, flare aquoso, hifema, descolamento e hemorragia retiniana (SCHULLER et al., 2015).

Em equinos, as infecções por *Leptospira spp.* são as mais relevantes dentre as causas infecciosas de Uveíte Recorrente Equina (URE), uma patologia multifatorial e causa frequente de cegueira em cavalos e mulas (SOUSA JÚNIOR, 2020). Já foram identificados no fluido ocular destas espécies, anticorpos específicos contra duas proteínas encontradas na *Leptospira spp.* (LruA e LruB) (VERMA et al., 2005; KHURANA et al., 2016).

#### **2.4. Proteínas inflamatórias de fase aguda**

As proteínas, base da estrutura de células, tecidos e órgãos, são substâncias essenciais à vida. Dentre as suas variadas funções desempenhadas, destacam-se a catalização enzimática em reações bioquímicas, o transporte de constituintes séricos como a tiroxina e a bilirrubina não conjugada e na defesa do organismo sob a forma de anticorpos (ECKERSALL, 2008; GARCIA et al., 2002).

As proteínas plasmáticas totais compreendem a albumina, globulina e o fibrinogênio. Esta última está ausente nas proteínas séricas totais, em decorrência de seu consumo durante o processo de coagulação sanguínea. As globulinas são constituídas pelas frações proteicas alfa, beta e gamaglobulinas ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ), as quais ainda podem ser subdivididas em duas bandas ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\gamma_1$  e  $\gamma_2$ ) (ECKERSALL, 2008).

A síntese de todas as proteínas supracitadas dá-se, principalmente, no fígado, com exceção das imunoglobulinas, que são sintetizadas pelos plasmócitos no tecido linfóide em resposta à estimulação antigênica, sendo incluídas nas frações beta e gamaglobulina ( $\beta$  e  $\gamma$ ) (BUSH, 2004).

As proteínas de fase aguda (PFA), identificadas no início do século XX como principais reagentes a doenças infecciosas, consistem em um grupo de proteínas cuja concentração sanguínea se altera rapidamente em decorrência

de processos infecciosos, estresse e danos teciduais (CANOVA et al. 1999; CRAY, 2012).

As PFA fazem parte da resposta de fase aguda, sendo fundamental para imunidade inata e demonstram ser importantes biomarcadores em processos de inflamação, infecção, neoplasia, estresse e trauma (CRAY, 2012). As PFA são produzidas, principalmente, pelos hepatócitos após estímulo de citocinas pró-inflamatórias liberadas em maior número pelos macrófagos (CERÓN et al., 2005). Entretanto, o mesmo autor relata outros sítios menos comuns de produção de PFA, incluindo rins, intestinos, coração, pulmão, baço, tecido adiposo e leucócitos.

Embora o fato de a denominação destas proteínas remeter a processos inflamatórios/infecciosos agudos, em casos de cronicidade das lesões, os níveis das PFA permanecem alterados em comparação aos animais saudáveis (GRUYS et al., 2005). Em relação à idade e sexo dos animais, não há indícios de influência nas concentrações de PFA, com exceção de gestantes, devido ao estado inflamatório induzido pela presença embrionária no endométrio (CALDIN et al., 2009).

A classificação das PFA pode ocorrer de acordo com sua concentração plasmática, seu mecanismo de ação ou de síntese (JAIN et al., 2011) e dimensão da resposta perante o estímulo inflamatório (ECKERSALL & BELL, 2010).

Proteína C-reativa (CRP), haptoglobulina (Hp), ceruloplasmina (Cp), amilóide sérica A (SAA), alfa-1-antitripsina (AAT), alfa-1-antiquimiotripsina (AAQ), alfa-1 glicoproteína ácida (APG), fibrinogênio, protrombina, fator de Von Willebrand, plasminogênio e fatores do complemento (C2, C3, C4, C5) são exemplos de PFA positiva cujas concentrações sanguíneas se elevam a partir do aumento de sua produção pelos hepatócitos por estímulo específico de citocinas (IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ ).

As proteínas cujas concentrações sanguíneas diminuem durante o processo inflamatório são chamadas PFA negativa – albumina, transferrina, transtiretina, a transcortina e a proteína de ligação do retinol (CERÓN et al., 2005; ECKERSALL, 2008; JAIN et al., 2011).

De acordo com o modo de ação das PFA, Jain et al. (2011) as classificam em inibidoras das proteases: AAT e AAQ; proteínas da coagulação: fibrinogênio

e protrombina; proteínas do sistema complemento: C2, C3, C4, C5; proteínas de transporte: Hp e Cp; e em demais proteínas são inclusas a CRP, SAA e AGP.

Como mecanismo de síntese, Jain et al. (2011) classificam as PFA como sendo proteínas produzidas devido a resposta de fase aguda, que estimula sua produção pelos hepatócitos e pela estimulação extra-hepática com a produção pelas células epiteliais, células endoteliais e tecido conjuntivo.

A classificação das proteínas de fase aguda de acordo com a dimensão da resposta a um estímulo inflamatório pode ser realizada considerando “*major*” as que são encontradas em baixas concentrações basais séricas ( $<1\mu\text{g/L}$ ) em cães saudáveis e aumentam de 100 a 1000 vezes a partir de um estímulo, com seu pico de 24h a 48h e declínio rápido na fase de recuperação. As proteínas classificadas como “*moderate*” aumentam de cinco a 10 vezes a partir de sua ativação, com pico de dois a três dias e declínio mais lento que as PFA “*major*”. As PFA “*minor*” alcançam um aumento entre 50% e 100% dos valores basais (ECKERSALL & BELL, 2010).

Os biomarcadores são definidos como características biológicas que podem ser objetivamente mensuradas e avaliadas como indicadores de processos biológicos fisiológicos ou patogênicos, de acordo com o National Institutes of Health (agência governamental do departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América) (ETTINGER & PROSEK, 2010), ou seja, são tecnologias que podem auxiliar na previsão, diagnóstico, causa, progressão, regressão ou o resultado do tratamento de uma doença (ECKERSALL & BELL, 2010).

Nas últimas décadas, as PFA têm sido utilizadas como biomarcadores para diferenciar estágios de doenças assim como para fornecer informações sobre a evolução da enfermidade e resposta ao tratamento clínico e/ou cirúrgico utilizado (CALDIN et al., 2009).

Um teste bioquímico deste tipo deve apresentar elevada sensibilidade, ou seja, deve detectar pelo menos 85% do(s) grupo(s) alvo. Deve também apresentar um nível razoável de especificidade sendo este discutível, mas assume-se que será razoável se exceder 80-85% (OYAMA, 2009).

Recentemente tem-se demonstrado interesse no uso das PFA na Medicina Veterinária devido a sua aplicabilidade clínica como marcador biológico em diversas situações patológicas como pancreatites, resposta inflamatória

sistêmica, neoplasia mamária, piometra, doença periodontal, linfoma, doenças cardíacas, gastrite, anemia hemolítica imunomediada, alterações endócrinas e outras situações (CALDIN et al., 2009; ECKERSALL & BELL, 2010; SIMÕES, 2016; CYRINO, 2020).

Contudo, observa-se que a concentração sérica das PFA está estritamente relacionada à gravidade do processo inflamatório, sendo assim, utilizá-la como biomarcador inflamatório ainda que de forma inespecífica, facilita o diagnóstico precoce da inflamação, prognóstico e monitoramento da doença, proporcionando o retorno da homeostase de forma mais rápida, principalmente nos casos nos quais os sinais clínicos não são observados (GARCIA et al., 2002).

Na Medicina Veterinária, variações nos níveis das PFA em resposta a quadros inflamatórios nas diferentes espécies têm sido motivos de estudo. As principais PFA em bovinos são a SAA e Hp, e em equinos, a SAA (MARTÍNEZ-SUBIELA et al., 2001).

Em cães, as principais PFA descritas são a proteína C-reativa, albumina, transtirretina, transferrina, fibrinogênio, ferritina, Hp, GPA, SAA e Cp (JAIN et al., 2011). Entretanto, a PFA considerada uma das mais importantes nos seres humanos e na espécie canina é a CRP, sendo caracterizada por apresentar baixos níveis fisiológicos e um rápido e acentuado aumento em casos de um estímulo inflamatório sistêmico (KJELGAARD-HANSEN, 2004).

#### **2.4.1. Resposta de fase aguda - processo inflamatório**

A resposta de fase aguda (RFA) consiste em um conjunto de reações locais e sistêmicas as quais têm por objetivo limitar a lesão tecidual, isolar e destruir microrganismos além de ativar processos para restaurar a homeostase no organismo (GARCIA et al., 2002).

As reações sistêmicas desencadeadas por uma RFA são geradas por meio de mediadores – interleucinas e interferons - que atuam em receptores específicos de diferentes células alvo os quais são produzidos e liberados após o estímulo desencadeado pela agregação plaquetária, vasodilatação, acúmulo e ativação de granulócitos e células mononucleares numa reação local promovendo aumento da quimiotaxia proporcionando efeitos imunomoduladores

auxiliando na redução de danos oxidativos (GARCIA et al., 2002; NAKAMURA et al. 2008; CRAY, 2012).

No local da lesão, macrófagos, monócitos, neutrófilos, linfócitos, fibroblastos, células endoteliais e epiteliais estimulam a liberação principalmente da interleucina 1 (IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF), consideradas as interleucinas primárias. Estas, por sua vez induzem a liberação de mais interleucinas, com destaque para a IL-6, considerada a principal indutora da produção da proteína C-reativa pelos hepatócitos na espécie canina (GABAY & KUSHNER, 2001; GARCIA et al., 2002).

Dentre os efeitos sistêmicos da RFA observa-se dor, febre, leucocitose, aumento da velocidade de hemossedimentação, ativação do sistema complemento e da cascata de coagulação e mudança e mudanças na concentração de proteínas sanguíneas – PFA (NAKAMURA et al., 2008).

O processo inflamatório na estrutura ocular é particularmente especial uma vez que danos que gerariam pouca ou nenhuma seqüela em demais órgãos, podem causar grandes conseqüências nas estruturas do bulbo. Para tanto, o olho possui um mecanismo organizado de sinalização e ativação de células inflamatórias denominado Desvio Imunológico Associado à Câmara Anterior (ACAID).

O ACAID baseia-se na liberação local de citocinas as quais são responsáveis por modificar a expressão de moléculas específicas em células apresentadoras de antígenos (APCs). Assim, ocorre um desvio na resposta inflamatória comparativamente àquela que ocorreria em demais órgãos (ENGLISH & GILGER, 2013).

Neste processo, as APCs presentes no olho recebem influência de citocinas locais liberadas após injúrias inflamatórias de baixa severidade e migram para órgãos linfóides primários e coativam linfócitos CD8+ regulatórios, os quais são capazes de modular a resposta de hipersensibilidade tardia e assim, minimizar efeitos colaterais da imunidade inata e adaptativa (ESSON et al., 2009; ENGLISH & GILGER, 2013).

No caso de uma injúria ocular severa, ocorre um desbalanço inflamatório e a ruptura da barreira hematoaquosa juntamente com a neovascularização permitem a infiltração de APCs do sangue periférico, conferindo uma resposta inflamatória semelhante à de outros órgãos (ENGLISH & GILGER, 2013).

No mecanismo inflamatório de uma lesão ocular ocorre, através da ação da enzima fosfolipase A2, a liberação do ácido araquidônico pelo tecido celular que, após ação das enzimas cicloxigenase (COX-1) e lipoxigenase (LOX) é convertido em prostaglandinas (PGD2, PGE, PGF2-alfa), tromboxanos e prostaciclina (PGI2), enquanto a LOX o converte em leucotrienos, hidroperóxido e hidroieicosatetranóicos (SPARKES et al., 2010).

As prostaglandinas são responsáveis pela quebra da barreira hematoaquosa pela dilatação e justaposição do epitélio do corpo ciliar, desencadeando os sinais inflamatórios como dor, redução da pressão intraocular (PIO), hiperemia conjuntival, miose e aumento de permeabilidade vascular, gerando um acúmulo de proteínas plasmáticas e componentes celulares denominado flare aquoso, o qual é responsável pela característica turva no humor aquoso (RIBEIRO & SCHRODER, 2015) sendo que a PGE2 é a prostaglandina mais importante, pois atua como mediadora dos sinais típicos da inflamação (STAREK, 2011).

Em relação aos infiltrados inflamatórios perante uma lesão ocular aguda ocorre, geralmente, exsudato proteináceo eosinofílico nas câmaras oculares e/ou no espaço subretiniano.

Simultaneamente, após ativação da cascata de coagulação, há extravasamento de fibrina nestes locais com usual associação a infiltrado neutrofílico. Estas alterações são mais comumente notadas em tramas penetrante-perfurantes com infecção bacteriana, septicemia e infecções fúngicas (ENGLISH & GILGER, 2013).

Em processos crônicos com maior associabilidade a doenças autoimunes geralmente os infiltrados linfoplasmocíticos são mais prevalentes. Estas células, por localizarem-se na periferia dos vasos, preservam o tecido conjuntivo adjacente, sem haver destruição tecidual evidente, como num processo séptico (DUBIELZIG et al., 2010).

Os infiltrados granulomatosos ocular estão relacionados a processos fúngicos, micobacterioses e corpos estranhos (DUBIELZIG et al., 2010).

#### **2.4.2. Proteína C-reativa**

A proteína C-reativa (CRP) foi a primeira proteína de fase aguda identificada com níveis aumentados após um processo inflamatório/infeccioso

(CERÓN et al., 2005). Sua denominação provém de sua capacidade em se ligar à fração C de polissacarídeos de *Pneumococcus*, fato este que levou à sua descoberta, em humanos (CERÓN et al., 2005).

Como mecanismos de proteção ao organismo, a CRP atua degradando conteúdo nuclear de células danificadas, eliminação de agentes infecciosos por meio da ativação do sistema complemento, secundariamente à ativação da imunidade humoral e celular do organismo (CERÓN et al., 2005).

Aumento nas concentrações de CRP em cães já foi relatado em casos de piometra, parvovirose e outras enterites, doença periodontal, dentre outras situações patológicas (ECKERSALL & BELL, 2010; SIMÕES, 2016). Contudo, não foi demonstrada diferença nas concentrações de CRP em cães de diferentes idades (BATHEN-NOETHEN et al., 2008).

Classificada como PFA “*major*”, a CRP tem sido relatada como a mais comumente avaliada em humanos (ECKERSALL & BELL, 2010) e em diversas outras espécies, como o cão, sua concentração sérica pode aumentar rapidamente de <1mg/L a >100mg/L, em resposta a diversas doenças infecciosas (babesiose, leishmaniose, leptospirose, parvovirose e endotoxemia por *Escherichia coli*) (CERÓN et al., 2005) e a quadros de artrite, linfoma, enterites endotoxêmicas (JERGENS et al., 2003).

Partindo de relatos da literatura da Medicina descrevendo aumento da CRP em doenças cardiovasculares, Reimann et al. (2016) relataram discretos aumentos desta em cães com insuficiência cardíaca congestiva, no entanto a severidade da doença valvar mitral mixomatosa assintomática não mostrou associação com as concentrações de CRP.

Em cães portadores de leishmaniose a CRP apresentou níveis superiores em animais sintomáticos comparados aos assintomáticos e, em ambos, maiores em relação aos saudáveis (MARTÍNEZ-SUBIELA et al., 2002).

Na Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) em cães também foi significativamente maior quando comparada a cães saudáveis e a cães com alterações inflamatórias locais (TORRENTE et al., 2015).

Em estudo realizado em cães com doença periodontal de diferentes graus, foi notada aumento da CRP, com posterior redução após tratamento periodontal (SIMÕES, 2016).

A CRP foi dosada em cães com diversas desordens e traumas cirúrgicos, e os resultados foram elevados de forma importante de 1 a 2 dias após a cirurgia, na maioria dos cães, e estes níveis foram rapidamente reduzidos quando as suturas foram removidas (YAMAMOTO et al., 1993).

Neste estudo, em cães com comorbidades, observou-se maiores valores de CRP na primeira abordagem do paciente, em sua maioria diminuindo conforme a remissão da doença e em raros casos, houve o aumento da CRP mesmo após a melhora do quadro. Os procedimentos cirúrgicos avaliados foram: ovariectomia devido à piometra, ovariectomia eletiva, cirurgias ortopédicas, extrações dentárias e excisões de tumores superficiais, enquanto as desordens não cirúrgicas foram: gastroenterites, enterites bacterianas e hemorrágicas, leptospirose, tumores, dermatopatias, doenças oculares, caquexia e nefrite (YAMAMOTO et al., 1993).

Em estudo realizado por Rikihisa et al. (1994), com infecção experimental por *E. canis* em cães, os autores detectaram aumento gradativo da CRP entre quatro e seis dias pós-inoculação até atingirem o pico entre 15 e 42 dias, quando os sinais da doença estavam instalados. Deste modo, os autores propuseram a hipótese clínica de suspeita de erliquiose quando os níveis de CRP estiverem elevados.

Munhoz et al. (2009) avaliaram a CRP na infecção experimental por *Ehrlichia canis* após o tratamento com cloridrato de doxiciclina e descreveram aumento da CRP antes da manifestação clínica da doença. Essas informações denotam uma importante característica da utilização da CRP, a qual pode ser usada não somente como fator preditivo, mas também pode informar a gravidade do processo patológico.

Mylonakis et al. (2011) demonstraram aumento mais intenso de CRP em cães mielossuprimidos perante infecção por erliquiose, em comparação aqueles sem mielossupressão.

Com possibilidade de instalação na prática clínica futura, as proteínas de fase aguda possuem importante aplicabilidade na Medicina Veterinária, uma vez que podem ser interpretadas como fatores de morbidade e mortalidade dos pacientes inclusive como parâmetro de monitoração da saúde de animais sadios, detectando doenças subclínicas assim como já ocorre na Medicina (EKCERSALL & BELL, 2010).

### 3. Referências\*

ABBAS, A. K.; LICHTMANN, A. H. Citocinas. In: ABBAS, A. K.; LICHTMANN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. cap. 11, p. 251-282.

ABREU, C. B.; NAVARRO, I. T.; BALAARIN, M. R. S.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; MARANA, E. R. M.; TRAPP, S. M.; TSUTSUI, V. S. Aspectos clínicos, patológicos e sorológicos da toxoplasmose experimental em cães jovens. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 22, n. 2, p.123-130, 2001.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. Washington: Organización Panamericana de la Salud, publicação n. 503, 1995. 989 p.

ANDRADE, A. L.; SANTO, E. F. E.; SAKAMOTO, S. S.; LIMA, L. K. F.; LUVIZOTTO, M. C. R. Citologia de impressão da superfície ocular de cães infectados naturalmente por *Leishmania (L.) chagasi*. **Archives of Veterinary Science**, v. 14, p.9-16, 2009.

ARAES-SANTOS, A. I.; MORAES-FILHO, J.; PEIXOTO, R. M.; SPOLIDORIO, M. G.; AZEVEDO, S. S.; COSTA, M. M.; LABRUNA, M. B.; HORTA, M. C. Ectoparasite Infestations and Canine Infection by Rickettsiae and Ehrlichiae in a Semi-Arid Region of Northeastern Brazil. **Vetor-borne and Zoonotic Diseases**. v. 15, n. 11, p.645-651, 2015.

AVUNDUK, A. M.; AVUNDUK, M. C.; VARNELL, E. D.; KAUFMAN, H. E. The comparison of efficacies of topical corticosteroids and nonsteroidal anti-inflammatory drops on dry eye patients: a clinical and immunocytochemical study. **American Journal of Ophthalmology**, v. 136, n. 4, p.593-602, 2003.

AZEVEDO, M. G. **Uveíte em cães: revisão bibliográfica**. 2017. 50p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

\*Referências organizadas de acordo com ABNT (Associação Nacional de Normas Técnicas) – NBR 6023, 2002/2018.

BATHEN-NOETHEN, A.; CARLSON, R., MENZEL, D., MISCHKE, R., TIPOLD, A. Concentrations of Acute-Phase Proteins in Dogs with Steroid Responsive Meningitis Arteritis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 22, n. 5, p. 1149- 1156, 2008.

BAUNGARTEN, L. B., EURIDES, D., BUSNARDO, C. A., GUIMARÃES, E. C., ALVES, L. B. A., SILVA, L. A. F., DALECK, C. R., DE SOUZA, L. A., DE OLIVEIRA, B. J. N. A., GONÇALVES, G. F. Avaliação da produção de lágrima em cães sem raça definida após exérese da glândula da terceira pálpebra estudo experimental. **Ceres**, v. 55, n. 4, p.293-296, 2008.

BIER, D.; SHIMAKURA, S.; MORIKAWA, V.; ULLMANN, L.; KIKUTI, M.; LANGONI, H.; BIONDO, A.; MOLENTO, M. Análise espacial do risco de leptospirose canina na Vila Pantanal, Curitiba, Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 74-79, 2013.

BOHIGIAN, G. M., OLK, R. J. Factors associated with a poor visual result in endophthalmitis. **American Journal of Ophthalmology**, v. 101, n. 3, p. 332-41, 1986.

BONAGURA, J. D. Ocular emergencies. In: KIRK & BONAGURA, J.D. **Kirk's current veterinary therapy XIII small animal practice**. Philadelphia: W. B. Saunders, 2000. 1090 p.

BRANDÃO, C. V. S.; RANZANI, J. J. T.; MARINHO, L. F. L. P.; RODRIGUES, G. N.; CREMONINI, D. N. Proptose em cães e gatos: análise retrospectiva de 64 casos. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 1, p. 83-87, 2005.

BREITSCHWERDT, E. B. The rickettsioses. In: **Textbook of Veterinary International Medicine**, 4th ed. (eds Ettinger SJ, Feldman EC) W.B. Saunders, Philadelphia, 1995; 400–408.

BRIGNOLE, F; PISELLA, P.; GOLDSCHILD, M.; SANT JEAN, M.; GOGUEL, A.; BAUNDOUIN, C. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eye. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 41, n. 6, p. 1356-1363, 2000.

BRITO, F. L. C.; LAUS, J. L.; TAFURI, W. L.; FIGUEIREDO, M. M.; SILVA JÚNIOR, V. A.; MAIA, F. C. L.; ALVES, L. C. Histopathological findings and detection of parasites in the eyes of dogs infected naturally with *Leishmania chagasi*. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p.1141-1147, 2010.

BUSH, B. M. Bioquímica Plasmática. In: BUSH, B. M. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2004, p. 169-223.

CABRAL, P. V.; LAUS, J. L.; DAGLI, M. L. Z.; PEREIRA, T. G.; TALIERI C. I.; MONTEIRO, E. R.; MAMEDE, F. V. Canine lacrimal and third eyelid superficial glands macroscopic and morphometric characteristics. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p.391-397, 2005.

CALDIN, M.; TASCA, S.; CARLI, E.; BIANCHINI, S.; FURLANELLO, T.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J. J. Serum acute-phase protein concentrations in dogs with hyperadrenocorticism with and without concurrent inflammatory conditions. **Veterinary Clinical Pathology**, Baton Rouge, v. 38, n. 1, p. 63-68, 2009.

CAMERON, J. D. Surgical and nonsurgical. In: TASMAN, W.; JAEGER, E.A. **Duane's Foundations of Clinical Ophthalmology**. Philadelphia (EUA): Lippincott Williams & Wilkins, v. 3, 2006.

CANOVA, C. R.; COURTIN, C.; REINHART, W. H. C-reactive protein (CRP) in cerebro-vascular events. **Atherosclerosis**, v. 147, p. 49–53, 1999.

CERÓN, J. J.; ECKERSALL; P. D.; MARTYNEZ-SUBIELA, S. Acute-phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, p. 85–99, 2005.

CHAGAS, E. Primeira verificação em indivíduo vivo da Leishmaniose visceral no Brasil. **Brasil Médico**, v. 50, p. 221-222, 1936.

CHAGAS, E.; CUNHA, A. M.; FERREIRA, L. C.; DEANE, L.; DEANE, G.; GUIMARÃES, F. N.; PAUMGARTTEN, M. J.; SÁ, B. Leishmaniose visceral americana (relatório dos trabalhos realizados pela comissão encarregada do

estudo da leishmaniose visceral americana em 1937). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 33, p. 189-229, 1938.

CHAVIKIN, M. J.; LAPPIN, M. R.; POWEUL, C. C.; COOPER, C. M.; MUÑANA, K. R.; HOWARD L. H. *Toxoplasma gondii* - specific antibodies in the aqueous humor of cats with toxoplasmosis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, n. 9, p.1244-1249, 1994.

CIARAMELLA, P.; OLIVA, G.; LUNA, R. D.; GRADONI, L.; AMBROSIO, R.; CORTESE, L.; SCALONE, A.; PERSECHINO, A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Veterinary Record**, v. 141, n. 21, p. 539-543, 1997.

COLITZ, C. M. H. Feline uveitis: diagnosis e treatment. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 20, n. 2, p. 117-120, 2005.

COLLINS, K. B.; MOORE, C. P. Canine anterior uvea. In: **Veterinary Ophthalmology**, 2nd ed. (ed. Gelatt, K.N.) Lea & Febiger, Philadelphia, 1991; 357–195p.

CORRÊA, A. P. F. L.; DOSSI, A. C. S.; VASCONCELOS, R. O.; LIMA, V. M. F. **Avaliação de citocinas imunoregulatórias em cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral**. In: 10 FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, 2006, Jaboticabal. Anais do Fórum de Leishmaniose Visceral canina 2006. p. 64.

COSTA, A. P.; COSTA F. B.; LABRUNA, M. B.; SILVIERA, I.; MORAES-FILHO, J.; SPOLIDORIO, M. G.; GUERRA, R. M. S. N. C. A serological and molecular survey of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia spp.* among dogs in the state of Maranhão, northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Parasitology**. v. 24, n. 1, p. 28-35, 2015.

COTTRELL, B. Abnormal appearance. In: PEIFFER, R. L. **Small animal ophthalmology: a problem – oriented approach**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1989, p.135-138.

CRAY, C. Acute-phase proteins in animals. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 105, p. 113-150, 2012.

CULLEN, C. L.; WEBB, A. Ocular Manifestations of Systemic Disease – Part 1: The Dog. In: GELATT, K. C. **Veterinary Ophthalmology**. 5th.ed. Wiley-Blackwell, 2013. Chapter 35, p.1897- 1977.

CUNHA, O. **Manual de Oftalmologia Veterinária**. Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina, Paraná, p.88, 2008.

CURTIS, R.; BAMETT, K. C.; LEON, R. Diseases of the canine posterior segment. In: **Veterinary Ophthalmology**, 2nd ed. (ed. Gelatt, K.N.) Lea & Febiger, Philadelphia, 1991; 461–525.

CYRINO, M. A. **Biomarcadores Inflamatórios e do Estresse Oxidativo na Piometra Canina**. 2020. 82p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu.

DE TOMMASI, A. S.; OTRANTO, D.; FURLANELLO, T.; TASCA, S.; CANTACESSI, C.; BREITSCHWERDT E. B.; STANNECK, D.; DANTAS-TORRES, F.; BANETH, G.; CAPELLI, G.; CAPRARIIS, D. Evaluation of Blood and Bone Marrow in Selected Canine Vector-Borne Diseases. **Parasites & Vectors**, v.7, p. 534, 2014.

DIESEM, C. **Generalidades sobre órgãos sensoriais e integumento comum: o órgão da visão**. In: R. Getty, Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos – Volume 1. (5ª edição). Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A. 2006, p. 212-213.

DONATIEN, A.; LESTOQUARD, F. Existence en Algerie d'une Rickettsia du chien. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 28, p. 418–219, 1935.

DUBIELZIG, R. R.; KETRING, K.; McLELLAN, G.J.; ALBERT, D.M. **Veterinary Ocular Pathology: a comparative review**. 1. ed. China: Elsevier Saunders, 2010. 456 p.

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute-phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, v. 185, p. 23- 27, 2010.

ECKERSALL, P. D.; CONNER, J. G. Bovine and canine acute-phase proteins. **Veterinary Research Communications**, v. 12, p. 169-178, 1988.

EGUCHI, G. U.; OLIVEIRA, G. G.; BABO-TERRA, V. J.; SOUZA, A. I.; BARROS, R.; PALUMBO, M. I. P. Ceratoconjuntivite nodular em um caso de leishmaniose visceral canina: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 6, p.1480-1484, 2017.

ENGLISH, R.; GILGER, B. C. Ocular immunology. In: GELATT, K.N.; GILGER, B.C.; KERN, T.J. **Veterinary Ophthalmology**. 5. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2013. p. 273-299.

ESSON, D.; ARMOUR, M.; MUNDY, P.; SCHOBERT, C. S.; DUBIELZIG R. R. The histopathological and immunohistochemical characteristics of pigmentary and cystic glaucoma in the Golden Retriever. **Veterinary Ophthalmology**, v. 12, n. 6, p. 361-368, 2009.

ESTANISLAU, C. A.; SOUZA, V. L.; BRANDÃO, C. V. S.; MERLINI, N. B.; RODAS, N. R.; FONZAR, J. F.; PERCHES, C. S.; RANZANI, J. J. T. Endoftalmite bacteriana severa bilateral em cão após facectomia intracapsular - Relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 1, p. 26-31, 2015.

ETTINGER, S. J.; PROSEK, R. Biomarkers of Cardiovascular Disease. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**. 7 ed. Missouri: Saunders Elsevier. 2010. Cap. 236, v. 2, p. 1.187 – 1.196.

FERRER, L. M. **Clinical aspects of canine leishmaniasis**. In: Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum. Barcelona, Spain. Canine Leishmaniasis: an update. Wiesbaden: Hoeschst Roussel Vet. 1999, p. 6-10.

FUNASA. Boletim Epidemiológico. **Evolução temporal das doenças de notificação compulsória no Brasil de 1980 a 1998**. 1999.

GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-phase proteins. **Encyclopedia of life sciences**. 2001. 171 p.

GAFF, H. D.; KOGAN, K. M.; SONENSHINE, D. E. **Tick-borne Rickettsiosis II (Anaplasmataceae)**. In: *Biology of Ticks*. 2<sup>a</sup> ed. Oxford University Press, 2013. Chapter 9, p. 251-277.

GALERA, P. D.; ARAÚJO, R. L. S.; SANT'ANA, F. J. F.; CASTRO, M. B. Caracterização clínica e histopatológica de bulbos oculares de cães e gatos (2005-2015). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1125-1132, 2017.

GARCIA-ALONSO, M.; BLANCO, A.; REINA, D.; SERRANO, F. J.; ALONSO, C.; NIETO, C. G. Immunopathology of the uveitis in canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v. 18, p. 617-623, 1996.

GARCIA, J. B. S.; ISSY, A. M.; SAKATA, R. K. Citocinas e anestesia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 1, p. 86-100, 2002.

GELATT, K. N. Doenças e cirurgia da órbita do cão. In: GELATT, K. N. **Manual de oftalmologia veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 3942.

GELATT, K. N. Ophthalmic Anatomy. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 6. ed. John Wiley & Sons, 2021. p. 51.

GOLDMAN, E. E.; BREITSCHWERDT, E. B.; GRINDEM, C. B.; HEGARTY, B. C.; WALLS, J. J.; DUMLER, J. S. Granulocytic ehrlichiosis in dogs from North Carolina and Virginia. **Journal of Veterinary International Medicine**, v. 12, n. 2, p. 61–70, 1998.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista brasileira de epidemiologia**, n. 7, p. 338-349, 2004.

GOTTLIEB, J.; ANDRE, M. R.; SOARES, J. F.; GONÇALVES, L. R.; OLIVEIRA, M. T.; COSTA, M. M.; LABRUNA, M. B.; BORTOLINI, C. E.; MACHADO, R. Z.; VIEIRA, M. I. B. *Rangelia vitalii*, *Babesia spp.* and *Ehrlichia spp.* in dogs in Passo

Fundo, state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian jornal of Veterinary Parasitology**, v. 25, n. 2, p. 172-178, 2016.

GREENE, C. E.; SYKES, J. E.; BROWN, C. A.; HARTMAN, K. **Leptospirosis**. In: GREENE, C. E. (Ed.) *Infectious diseases of the dog and cat*. 3 ed. St. Louis: Elsevier, 2006. p.402-417.

GRÖNE, A.; FRISK, A. L.; BAUMGARTNER, W. Cytokine mRNA expression in whole blood samples from dogs with natural canine distemper virus infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 65, n. 1, p. 11-27, 1998.

GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; NIEWOLD, T. A.; KOOPMANS, S. J. Acute-phase reaction and acute-phase proteins. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v. 6, n. 11, p. 1045-1056, 2005.

GUEDES, P. E. B.; OLIVEIRA, T. N. A.; CARVALHO, F. S.; CARLOS, R. S. A.; ALBUQUERQUE, G. R.; MUNHOZ, A. D.; WENCESLAU, A. A.; SILVA, F. L. Canine Ehrlichiosis: Prevalence and Epidemiology in northeast Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 24, n. 2, p. 115-121, 2015.

GUM, G. G.; GELATT, K. N.; OFRI, R. Physiology of the eye, In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**, 3 Ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 1999, p. 151-182.

HAMOR, R. E. Terceira pálpebra. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3º Ed. São Paulo: Manole, 2007. Cap. 90. p. 1361-1368.

HARDY, R. M. General physical examination of the canine patient. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 11, n. 3, p. 453-467, 1981.

HARRMAN, E. G.; VAN HORTEN, M.; FRIK, J. F.; VAN DER DONK; J. A. Humoral immune responses of dogs after vaccination against leptospirosis measured by IgM- and IgG-specific ELISA. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 7, n. 3-4, p. 245-254, 1984.

HARRUS, S.; OFRI, R.; AIZENBERG, I.; WANER, T. Acute blindness associated with monoclonal gammopathy induced by *Ehrlichia canis* infection. **Veterinary Parasitology**, v. 78, p.155-160, 1998.

HEDLUND, C. S. **Cirurgia do Olho**. In: FOSSUM, T. W. Cirurgia de pequenos animais. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. Cap. 16, p. 260 – 288.

HENDRIX, D. V. H. Diseases and surgery of the canine anterior uvea. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 1 ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

HENDRIX, D. V. H. Diseases and surgery of the canine anterior uvea. **Veterinary ophthalmology**, 5 ed., p. 1146-1198, 2013.

HENDRIX, D. V. H. Diseases and surgery of the canine anterior uvea. **Veterinary ophthalmology**, 5 ed., p. 276-300, 2014.

HERRERA D. **Surgery of the Eyelids**, Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association, Mexico City, Mexico, p.1-4, 2005.

JANSEN, L. M.; VAN DER HORST-BRUIJNSMA, I. E.; VAN SCHAARDENBURG, D.; BEZEMER, P. D.; DIJKMANS, B. A. Predictors of radiographic joint damage in patients with early rheumatoid arthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**. v. 60, p. 924–927, 2001.

JABS, D. A.; PREDERGAST, R. A.; RORER, E. M.; HUDSON, A. P.; WHITTUMHUDSON, J. A. Cytokines in autoimmune lacrimal gland disease in MRL/MpJ mice. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 42, n. 11, p. 2567-2571, 2001.

JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, p.118-127, 2011.

JERGENS, A. E.; SCHREINER, C. A.; FRANK, D. E.; NIYO, Y.; AHRENS, F. E.; ECKERSALL, P. D.; BENSON, T. J.; EVANS, R. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, p. 291–297, 2003.

JONES, T. J.; MONROY, D.; JI, Z.; ATHERTON, S. S.; PFLUGFELDER, S. C. Sjögren syndrome: cytokine and Epstein-barr viral gene expression within the conjunctival 69 epithelium. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 35, n. 9, p. 3493-3504, 1994.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica – texto/atlas**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 488p.

KERN, T. J. Ulcerative keratitis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 2, p. 643-665, 1990.

KHURANA, S. K.; DHAMA, K.; MINAKSHI, P.; GULATI, B.; MALIK, Y. S.; KARTHIK, K. Leptospirosis in horses: special reference to equine recurrent uveitis. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, v. 4, n. Spl 4-EHIDZ, 2016.

KIERSZENBAUM, A.; TRES, L. Sensory organs: vision and hearing. In: KIERSZENBAUM, A.; TRES, L. **Histology and cell biology: an introduction to pathology**. 3 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, p. 261- 263, 2012.

KJELGAARD-HANSEN, M. **Canine C-reactive protein: a study on the aplicabiliy of canine serum C-reactive protein**. 2004. 130p. Tese (Veterinary Clinical Pathology) – Department of Small Animal Clinical Sciences, The Royal Veterinary and Agricultural University.

KOMAI, Y.; SAITO, K.; SAKAI, K.; MORIMOTO, S. Increased preoperative serum C-reactive protein level predicts a poor prognosis in patients with localized renal cell carcinoma. **BJU Internacional** v. 99, p. 77–80, 2006.

LAUS, J. Z. Oftalmologia Canina. **XXXV Semana Capixaba do Médico Veterinário e II Encontro Regional de Saúde Pública em Medicina Veterinária**. Guarapari – ES, 2008.

LEISHMAN, W. B. On the possibility of the occursens of trypanosomiasis in Índia. **British Medical Journal**, v. 1, p. 1252-1254, 1903.

LEIVA, M.; NARANJO, C.; PEÑA, M. T. Ocular signs of Canine Monocytic Ehrlichiosis: A retrospective study in dogs from Barcelona, Spain. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n. 6, p. 387-393, 2005.

LEMOS, J. P.; MELO, C. B.; VIEGAS, A. R. A. Análise sorológica de *Leptospira spp.* em cães errantes do município de Aracaju. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, a.8, n. 14, 2012.

LEWIS, D. J. Phlebotomid sandflies. **Bulletin of World Health Organization**, v. 44, p. 535-51, 1971.

LIMA, J. S.; SANTOS, G. C. S.; RODRIGUES, S. S.; SANTOS, F. V. Morbidade e mortalidade por doenças relacionadas ao saneamento ambiental inadequado em Belém do Pará. **Revista Ciência e Sustentabilidade**, v. 4, n. 2, 2018.

LIMA, V. M. F.; PEIRÓ, J. R. **IL-6 é produzida em cães naturalmente infectados com *Leishmania chagasi***. In: 10 FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, 2006, Jaboticabal. Anais do Fórum de Leishmaniose Visceral canina 2006. p.61.

LITTLE, S. E. Ehrlichiosis and Anaplasmosis in dogs and cats. **Veterinary Clinic of Small Animals**. v. 40, p. 1121–1140, 2010.

LOW, D. G. General examination of dogs. **Veterinary Clinics of North America**, v. 1, n. 1, p. 3-14, 1971.

LUCAS, S. R. R.; HAGIWARA, M. K.; RECHE Jr., A.; GERMANO, P. M. L. Occurrence of antibodies to Toxoplasma in cats naturally infected with immunodeficiency virus. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 35, n. 1, p. 41- 45, 1998.

MAGGS, D. J. Cornea and sclera. In: MAGGS, D. J.; MILLER, P. E.; OFRI, R., **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. 4 ed. Missouri: Saunders, p. 175-194, 2008.

MANDELL, D. C. Ophthalmic emergencies. **Clinical techniques small animal practice**. Philadelphia, v. 15, n. 2, p.94-95, 2000.

MARTIN, C. L. Ocular manifestations of systemic disease. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**, 3 ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p. 1401–1504, 1999.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; ECKERSALL, P. D.; CERÓN, J. J. Serum concentrations of acute-phase proteins in dogs with leishmaniasis. **Veterinary Record**, London, v. 150, n. 8, p. 241-244, 2002.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; PARRA, M. D.; CERÓN, J. J. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinária. **Annals Veterinary**, v. 17, p. 97-114, 2001.

MASCOLLI, R.; SOTO, F. R. M.; BERNARDI, F.; ITO, F. H.; PINHEIRO, S. R.; GUILLOUX, A. G. A.; AZEVEDO, S. S.; FERNANDES, A. R. F.; KEID, L. B.; MORAIS, Z. M.; SOUZA, G. O.; VASCONCELLOS, S. A. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose e brucelose na população canina da Estância Turística de Ibiúna, São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-7, 2016.

MAZZI, M. F.; D'AGOSTINO DIAS, M. Ceratite ulcerativa corneal traumática em cão: tratamento com oxigenoterapia hiperbárica. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.12, n.12, p.1-8, 2018.

MOORE, C. P. Terceira pálpebra. In: SLATTER D. (ed.). **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. v. 2, 2ed. Editora Manole, São Paulo, p. 1428-1435, 1998.

MUNHOZ, T. D.; FARIA, J. L. M.; HERNANDES, G. V.; JOÃO, C. F.; PEREIRA, W. A. B.; ANDRÉ, M. R.; MACHADO, R. Z.; TINUCCI-COSTA, M. Mensuração da proteína c-reativa na infecção experimental por *Ehrlichia canis* (amostra jaboticabal) e após o tratamento com cloridrato de doxiciclina em cães. **Veterinária Notícias**, v. 15, n. 2, 2009.

MYLONAKIS, M. E., CERÓN, J. J., LEONTIDES, L., SIARKOU, V. I., MARTÍNEZ, S., TVARIJONAVICIUTE, A., KOUTINAS, A. F., HARRUS, S. Serum acute-phase proteins as clinical phase indicators and outcome predictors in naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 25, n. 4, p. 811-817, 2011.

NAKAMURA, M., TAKAHASHI, M., OHNO, K., KOSHINO, A., NAKASHIMA, K., SETOGUCHI, A., FUJINA Y. C-reactive protein concentration on dogs with various diseases. **Journal of Veterinary Medical Science**, 70,127-131, 2008.

NARANJO, C., FONDEVILA, D., LEIVA, M., ROURA, X., PEÑA, T. Detection of Leishmania spp. and associated inflammation in ocular-associated smooth and striated muscles in dogs with patent leishmaniosis. **Veterinary Ophthalmology**, v. 13, n. 3, p. 139–143, 2010.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une protozoaire nouveau du gondi, Toxoplasma. **Archives de L'Institut Pasteur de Tunis**, v. 2, p. 216-218, 1909.

OHASHI, Y.; DOGRU, M.; TSUBOTA, K. Laboratory findings in tear fluid analysis. **Clinica Chimica Acta**. v. 369, p. 17-28, 2006.

OHNO, K.; YOKOYAMA, Y.; NAKASHIMA, K.; SETOGUCHI, A.; FUJINO., Y.; TSUJIMOTO, H. C-reactive protein concentration in canine idiopathic polyarthritis. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 68, p. 1275–1279, 2007.

ORNELLAS, R. O. **Avaliação da soroprevalência de Leishmaniose Visceral, Toxoplasmose e Leptospirose na fauna doméstica, em ambiente antropizado da Mata Atlântica, município do Rio de Janeiro**. 2017. 58p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

OYAMA, M.A. Biochemical markers of heart disease. In: **Proceeding Of The Sevc - Southern European Veterinary Conference**, 2009, Barcelona - Spain.

PANCIERA, R. J.; EWING, S. A.; CONFER, A. W. Ocular histopathology of ehrlichial infections in the dog. **Veterinary Pathology**, v. 38, p. 43–46, 2001.

PAVLIDIS, A.N.; KALEF-EZRA, J.; BOURANTAS, L.C.; LAMBROU, A.; MAVRIDIS, A. Serum tumor markers in non-Hodgkin's lymphomas and chronic lymphocytic leukemia. **The International Journal of Biological Markers**, v. 8, p. 14–20, 1993.

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

PICARDEAU, M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 43, n. 1, p. 1-9, 2013.

PINTO, A. B. T.; CARVALHO, C. B. Oftalmopatias na erliquiose monocítica canina. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**. v. 6, n. 12, p. 442-452, 2013.

POLACHINI, C. O.; FUJIMORI, K. Leptospirose canina e humana, uma possível transmissão conjuntival no Município de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 3, 2015.

POWELL, C. C. Vision-threatening corneal ulcers. In: WINGFIELD, W. E. **Veterinary emergency medicine secrets**. 2 ed. Philadelphia: Hanley & Belfus, p. 167-168, 2001.

READ, R. W. Endophthalmitis. In: YANOFF M.; Duker, J. S. **Ophthalmology**. 3<sup>a</sup>ed. St Louis: Mosby, p. 1552, 2011.

READ, J. A.; CHOY, S. T.; BEALE, P. J.; CLARKE, S. J. Evaluation of nutritional and inflammatory status of advanced colorectal cancer patients and its correlation with survival. **Nutrition and Cancer**, n. 55, p. 78-85, 2006.

REIMANN, M. J.; LJUNGVALL, I.; HILLSTRÖM, A.; MØLLER, J.E.; HAGMAN, R.; FALK, T.; HÖGLUND, K.; HÄGGSTRÖM, J.; OLSEN, L.H. Increased serum C-reactive protein concentrations in dogs with congestive heart failure due to myxomatous mitral valve disease. **The Veterinary Journal**, v. 209, p. 113-118, 2016.

RIBEIRO, A. P.; BRITO, F. L. C.; MARTINS, B. C.; MAMEDE, F.; LAUS, J. L. Qualitative and quantitative tear film abnormalities in dogs. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, 2008.

RIBEIRO, A. P.; SCHRODER, D. C. Uveíte anterior em cães e em gatos. **Investigação**, v. 14, n. 2, p. 21-27, 2015.

RIKIHISA, Y.; YAMAMOTO, S.; KWAK, I.; IQBAL, Z.; KOCIBA, G.; MOTT, J.; CHICHANASIRIWITHAYA, W. C-reactive protein and  $\alpha$ 1-acid glycoprotein levels in dogs infected with *Ehrlichia canis*. **Journal of Clinical Microbiology**., v. 32, n. 4, p. 912-917, 1994.

RODRIGUES, N. J. L. **Resposta sorológica de anticorpos das classes IgM e IgG anti *Toxoplasma gondii* em cães com alterações oculares**. 2020. 21p. Trabalho de conclusão de residência (Residente em área profissional da saúde em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.

SALB, A. L.; BARKEMA, H. W.; ELKIN, B. T.; THOMPSON, R. C. A.; WHITESIDE, D. P.; BLACK S. R. Dogs as sources and sentinels of parasites in humans and wildlife, northern Canada. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 60-63, 2008.

SAMUELSON, D. A. Ophthalmic anatomy. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**, 3 Ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 1999, p. 31-150.

SANTIM, K.; SELLA, A. B.; CARDOSO, M. R. I. Pesquisa de aglutininas anti-Leptospira em cães clinicamente sadios e em cães com suspeita clínica de leptospirose. **Revista Clínica Veterinária**, v. 60, p. 48-52, 2006.

SANTOS, F.; COPPEDE, J. S.; PEREIRA, A. L. A.; OLIVEIRA, L. P.; ROBERTO, P. G.; BENEDETTI, R. B. R.; ZUCOLOTO, L. B.; LUCAS, F.; SOBREIRA, L.; MARINS, M. Molecular evaluation of the incidence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* and *Babesia spp.* in dogs from Ribeirão Preto, Brazil. **Veterinary Journal**, v. 179, n. 1, p. 145-148, 2009.

SCHULLER, S.; FRANCEY, T.; HARTMANN, K.; HUGONNARD, M.; KOHN, B.; NALLY, J. E.; SYKES, J. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, v. 56, 2015.

SHIMADA, T.; ISHIDA, Y.; SHIMIZU, M.; NOMURA, M.; KAWATO, K.; IGUCHI, K.; JINBO, T. Monitoring c-reactive protein in beagle dogs experimentally inoculated

with *Ehrlichia canis*. **Veterinary Research Communications**, v. 26, n. 3, p. 171-177, 2002.

SHIVELY, J. N.; EPLING, G. P. Fine structure of the canine eye: cornea. **American Journal of Veterinay Research**, v. 31, n. 4, p. 713-722, 1970

SHUKLA, A.; PINARD, C. **Feline Uveitis**. In: Compendium: Continuing Education for Veterinarians, p. 1-9, 2012.

SIMÕES, G. J. M. **Avaliação dos níveis séricos de proteína c-reativa em cães com doença periodontal**. 2016. 76p. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa.

SKOTARCZAK, B. Canine ehrlichiosis. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine** v. 10, p. 137–141, 2003.

SLATTER, D. Ocular emergencies. In: SLATTER, D. **Fundamentals of veterinary ophthalmology**. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1990. p. 537-540.

SLATTER, D. Uvea. In: SLATTER, D. **Fundamentos de Oftalmologia Veterinária**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2005.

SMYTHE, R. H. The eyeball and its surroundings. In: SMYTHE, R. H. **Veterinary ophthalmology**. London: Baillire Tindall and Cox, 1956. p. 86-89.

SOUSA JÚNIOR, A. C. C. **Abordagem anatômica, clínica e cirúrgica da uveite recorrente equina: revisão de literatura**. 2020. 41 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Medicina Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba, Areia.

SPARKES, A. H. **Toxoplasmosis en el gato y en el hombre**. In: Congreso de la Asociación Mundial de Medicina Veterinaria de Pequeños Animales, 1998, Buenos Aires. Anais... Buenos Aires: Asociación Mundial de Medicina Veterinaria de Pequeños Animales, 1998. p. 415-417.

SPARKES, A. H.; HEIENE, R.; LASCELLES, B. D. X.; MALIK, R.; SAMPIETRO, L. R.; ROBERTSON, S.; SCHERK, M.; TAYLOR, P. ISFM and AAFP consensus guidelines: long term use of NSAIDS in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, n. 7, p. 521- 538, 2010.

STAREK, M. Review of the applications of different analytical techniques for coxibs research. **Talanta**, v. 85, n. 1, p. 8-27, 2011.

STERN, M. E.; GAO, J.; SCHWALB, T. A.; NGO, M.; TIEU, D. D.; CHAN, C.; REIS, B. L.; WHITCUP, S. M.; THOMPSON, D.; SMITH, J. A. Conjunctival T-cell subpopulation in Sjögren and non-sjögren's patients with dry eye. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 43, n. 8, p. 2609-2614, 2002.

STREILEIN, J.W.; KOUICHI, O.; MO, J.S.; TAYLOR, A.W. Ocular immune privilege and the impact of intraocular inflammation. **DNA and Cell Biology**, v. 21, n. 5/6, p. 453-459, 2002.

TAFFAREL, M. O. CAVALCANTE, C. Z. CUNHA, O. Ceratoconjuntivite seca. **Revista Nosso Clínico**. São Paulo, ano 5, n. 28, p. 6-12, 2002.

TORRENTE, C.; MANZANILLA, E. G.; BOSCH, L.; FRESNO, L.; ALAMO, M. R.; ANDALUZ, A.; SACO, Y.; GOPEGUI, R. R. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 25, n. 5, p. 611–619, 2015.

TOWNSEND, W., BEDFORD, P.; JONES, G. Abnormal appearance. In: PEIFFER, R. L. & PETERSEN-JONES, S. M. **Small animal ophthalmology: a problem-oriented approach**. 4 ed. London: Saunders Elsevier. 2009, p. 68-71, 101.

TOWNSEND, W. M. Canine and feline uveitis. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. v. 38, n. 2, p. 323-346, 2008.

TURNER, S. M. **Oftalmologia em pequenos animais**. 1. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier Saunders, 2010, 370 p.

ULMAN, L. S.; GUIMARÃES, F. F.; FORNAZARI, F.; TOME, R. O.; CAMOSSO, L. G.; GRECA, H.; SILVA, R. C.; MENOZZI, B. D.; LANGONI, H. Ações de

vigilância continuada, papel do cão como animal sentinela para toxoplasmose. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 345-347, 2008.

VALLE, L.; CAMBA, M.; FERNÁNDEZ, F.; PAZ, J.; SANJURJO, A.; AGUADO, J. F. Endoftalmite Bacteriana Endógena. **Acta Médica Portuguesa**. v. 23, p. 1127-32, 2010.

VANDERWAGEN, L. C.; BEHYMER, B. S.; RIEMANN, H. P.; FRANT, C. E. A survey for Toxoplasma antibodies in Northern California livestock and dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 164, n. 3, p. 1034-1037, 1974.

VERMA, A.; ARTIUSHIN, S.; MATSUNAGA, J.; HAAKE, D. A.; TIMONEY, J. F. LruA and LruB, novel lipoproteins of pathogenic *Leptospira interrogans* associated with equine recurrent uveitis. **Infection and immunity**, v. 73, n. 11, p. 7259-7266, 2005.

WARD, D. A. Diseases and surgery of the canine nictitating membrane, p. 132-165. In: GELATT, K. N. **Veterinary Ophthalmology**. 3<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Williams and Wilkins. 1999.

WILCOCK, B. P. General pathology of the eye. In: MAGGS, D.J., MILLER, P.E.; OFRI, R. **Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology**. 4 ed. Missouri: Saunders, 2008, p. 62, 66-69, 73-77, 79.

WHO Expert Committee on the Control of the Leishmaniasis & World Health Organization. **Control of the leishmaniasis: report of a WHO expert committee [meeting held in Geneva from 6 to 10 February 1989]**. World Health Organization, 1990.

WOODY, B. J.; HOSKINS, J. D. Ehrlichial diseases of dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 21, p. 75-98, 1991.

YAMAMOTO, J. H.; HAYASHI, S.; SCARPI, M. J.; GOMES, J. A. P.; DUA, H. S.; BELFORT JR, R. Imunologia do olho. In: GOMES, J. A. P.; ALVES, M. R. **Superfície ocular**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006. p. 25-35.

YAMAMOTO, S.; SHIDA, T.; MIYAJI, S.; SANTSUKA, H.; FUJISE, H.; MUKAWA, K.; FURUKAWA, E.; NAGAE, T.; NAIKI, M. Changes in serum C-reactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas. **Veterinary Research Communications**, v. 17, n. 2, p. 85-93, 1993.

## CAPÍTULO 2

Trabalho a ser enviado para a revista “Journal of Veterinary Medical Science”, seguindo as seguintes normas: [http://jvetsci.jp/jvms/wp-content/themes/jvms-green/img/instruction\\_en.pdf](http://jvetsci.jp/jvms/wp-content/themes/jvms-green/img/instruction_en.pdf)

FULL PAPER: Laboratory Animal Science

**Níveis Séricos De Proteína C-Reativa Em Cães Com Alterações Oculares Primárias Ou Associadas A Doenças Sistêmicas**

Luís Felipe Fernandes REITER<sup>1)\*</sup>, Cláudia Valéria Seullner BRANDÃO<sup>1)</sup>, Regina Kiomi TAKAHIRA<sup>2)</sup>,

<sup>1)</sup>Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Unesp)- Botucatu, São Paulo 18616-681, Brasil

<sup>2)</sup>Departamento de Clínica Veterinária - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Unesp)- Botucatu, São Paulo 18616-681, Brasil

Correspondence to: Cláudia Valéria Seullner Brandão

Email: valeria.brandao@unesp.br

**ABSTRACT:**

C-reactive protein (CRP) is an important acute-phase protein in dogs once it is considered an early biomarker of inflammatory / infectious lesions. Its use in veterinary medicine is rising in diseases such as pyometra, heart disease, periodontal disease and gastroenteritis. This study compared serum CRP in dogs with ocular diseases associated or not with systemic diseases, including toxoplasmosis, leishmaniasis and ehrlichiosis. 67 dogs' serological samples were divided into 3 groups: G1 - 23 dogs with ocular disorder secondary to confirmed systemic diseases; G2 - 22 dogs with primary eye disorders, negative disease tests; G3 - control group composed by 22 healthy dogs without ocular disorders nor systemic diseases. There was a statistically significant difference ( $P < 0.001$ ) between the CRP concentrations of G1 and G2 and between G1 and G3. The measurement of CRP was shown to be effective as a biological marker of ocular inflammatory process, especially when it is secondary to infectious origin systemic disease. CRP has potential application in ophthalmological practice in dogs.

**Keywords:** Acute phase protein, Canine, Inflammation, Ophthalmology, Uveitis.

## INTRODUÇÃO

O exame físico geral juntamente com a seleção de exames específicos é decisivo para o diagnóstico preciso de enfermidades na Medicina Veterinária [10, 16].

Dosagens de proteínas de fase aguda em cães, como a proteína C-reativa (CRP), apresentam como principal vantagem o fato de suas alterações serem marcadores precoces de lesões inflamatórias [6].

A CRP trata-se de biomarcador produzido predominantemente no fígado em resposta à citocinas pro-inflamatórias [21]. Apesar desta ser a proteína de fase aguda (PFA) mais profundamente estudada em cães [21], destaca-se que suas dosagens são raramente realizadas na rotina clínica devido à escassez de estudos aprofundados sobre a sua concentração nas várias doenças [21], inclusive nas oftalmológicas.

Na Medicina, a CRP foi descrita como indicadora da severidade e prognóstico de diversas doenças, como linfomas não-Hodgkin's e leucemia linfocítica crônica [24], artrite reumatoide [13], carcinoma de células renais [14], e câncer colorretal avançado [26].

A aplicabilidade clínica dessa dosagem ainda está em ascensão na Medicina Veterinária, visando indicar resposta ao tratamento e prognóstico em poliartrites idiopáticas em cães [23] e como possível marcador clínico de doença periodontal canina [29] e como biomarcador inflamatório em piometras em cadelas [4].

O diagnóstico preciso da etiologia da uveíte em cães é imprescindível na prevenção da perda visual destes animais, pois trata-se de uma doença potencial causadora de cegueira na espécie [12].

A utilização das PFA em comparação à análise do leucograma em processos inflamatórios/infecciosos apresenta como vantagens sua maior estabilidade em contraste à análise dos componentes celulares sanguíneos e menor influência de estímulos fisiológicos passageiros, como ocorre no caso de recrutamento de leucócitos marginais, associado à possibilidade de congelamento do material [18].

As uveítes na espécie canina são comumente desencadeadas a partir de doenças sistêmicas infecciosas, principalmente pelos agentes *Ehrlichia* spp., *Leishmania* spp., *Babesia* spp., *Toxoplasma gondii* e fungos [11]. Outras etiologias da uveíte endógena incluem agentes parasitários, indução pela lente, neoplásica ou idiopática [2, 11].

Em cães, as causas mais comuns de uveíte exógena incluem cirurgia intraocular, trauma, ceratite ulcerativa e feridas penetrantes [2, 11].

A toxoplasmose, zoonose de caráter mundial causada pelo protozoário *T. gondii* [35], apresenta a uveíte como manifestação ocular mais frequente e de maior importância [33]. Em estudo realizado avaliou-se 75 cães com alterações oculares, 52% foram reagentes para as imunoglobulinas IgM e IgG, por meio de Reação de Imunofluorescência Indireta. Dentre estes, 72% apresentaram anticorpos da classe IgG e 87% para a classe IgM [27].

A erliquiose canina é uma doença transmitida por carrapatos tendo como agente etiológico a bactéria *Rickettsia Ehrlichia canis* – bactéria gram-negativa intracelular obrigatória com tropismo por células hematopoiéticas - e é mundialmente distribuída, principalmente em áreas tropicais e subtropicais [8, 9, 28]. As lesões oculares são uma característica comum da erliquiose canina e podem estar presentes em todas as fases da doença, embora sejam

dependentes da severidade da enfermidade e não ocorrem em todos os pacientes [8]. As lesões nos tecidos oculares em cães com o diagnóstico confirmado de erliquiose ocorreram em aproximadamente 37% dos casos [15].

A hipótese do estudo foi a determinação da eficácia da CRP como biomarcador precoce de lesões oculares de etiologia sistêmica inflamatória quando comparadas às afecções primárias ou mesmo sem lesões. A escassez de relatos na literatura, especialmente na área da oftalmologia, a respeito de dosagens da CRP em cães acometidos por uveíte, estimulou o seu desenvolvimento, uma vez que pode ser aplicável como uma importante ferramenta diagnóstica nos casos desafiadores dessa afecção comum em cães. O objetivo foi comparar os níveis de CRP em cães com alterações oculares primárias ou secundárias às doenças sistêmicas, bem como em animais hígidos, sem apresentação clínica de alterações.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

A metodologia foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Botucatu, segundo processo nº 0019/2021. Os animais foram incluídos no estudo mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido dos tutores.

*Amostras:* foram avaliadas amostras sorológicas de 67 cães distribuídas em três grupos experimentais: G1 – composto por 23 cães com uveítes secundárias a toxoplasmose e/ou leishmaniose e/ou hemoparasitoses; G2 – 22 pacientes apresentando alterações oculares primárias; G3 – grupo controle composto por 22 animais hígidos, sem alterações oculares e sistêmicas.

Todos os animais portadores de alterações oculares foram atendidos no Ambulatório de Oftalmologia Veterinária do Hospital Veterinário da UNESP-Botucatu.

Os soros obtidos foram submetidos à Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*Leishmania chagasi*, além de soro aglutinação microscópica para detecção de anticorpos anti leptospirose.

Todos os indivíduos foram submetidos a exame de hemograma e perfil bioquímico sérico, dosagens de ureia, creatinina, alanina aminotransferase – ALT, fosfatase alcalina – FA, gama glutamil transferase – GGT, proteína sérica total, albumina e globulinas, realizados no Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia UNESP-Botucatu.

As amostras do G3 foram obtidas de cães recrutados ou doadores de sangue do Hospital Veterinário, cujo sangue e soro foram coletados e fracionados para hemograma e dosagens bioquímicas.

*Método de coleta:* As amostras foram coletadas por meio de venopunção jugular ou cefálica. Foi coletado no mínimo 5 ml de sangue, sendo que 3 ml foram destinados à realização de hemograma e perfil bioquímico e 2 ml para os testes das doenças sistêmicas e dosagens de CRP. Foram imediatamente armazenados em tubo de coleta sem anticoagulante e, após completa coagulação, centrifugados a 3.000 rpm por 10 minutos. Os soros obtidos foram acondicionados em tubos cônicos de 1,5 ml com tampa e devidamente identificados de acordo com os respectivos grupos e, então, mantidos congelados a -20°C até o seu processamento.

*Doenças infecciosas testadas:* Foram testadas toxoplasmose, leishmaniose, leptospirose e as hemoparasitoses (erliquiose, anaplasmosse, doença de Lyme e dirofilariose).

*Técnica de detecção de toxoplasmose, leishmaniose:* Por meio do método de RIFI foram realizadas sorologias para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*L. chagasi*, em diluições sucessivas do soro (1:16, 1:64, 1:256, 1:1024, 1:4096 para toxoplasmose e 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640 para leishmaniose) em solução saturada (SST) 0,01M pH 7,2 até sua extinção em lâmina previamente sensibilizada com os respectivos antígenos. A seguir, foram acrescentados à reação o conjugado anti-IgG específico para a espécie examinada conjugado com o isotiocianato de fluoresceína. Procedeu-se da mesma forma com o conjugado anti-IgM específico para cães, com leitura em microscópio de imunofluorescência.

Os testes foram realizados no Serviço de Zoonoses do Hospital Veterinário da FMVZ/UNESP-Botucatu.

*Técnica de detecção das hemoparasitoses:* Todas as amostras foram submetidas ao teste IDEXX SNAP® 4Dx® Plus de acordo com as recomendações do fabricante, visando detectar anticorpos contra as seguintes hemoparasitoses: *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*; e antígenos de *Dirofilaria immitis*.

O teste IDEXX SNAP® 4Dx® Plus foi utilizado em estudo com 1601 amostras sanguíneas, conferindo sensibilidade e especificidade maior que 89% para detecção de anticorpos contra *A. phagocytophilum*, *A. platys* e *E. canis* [30]. Para *E. canis*, houve 97,8% de sensibilidade e 92,3% de especificidade.

*Método de dosagem da CRP:* Foi realizado o método quantitativo imunoturbidimétrico, utilizando o kit Proteína C-Reativa Blioclin®, em aparelho bioquímico automatizado Cobas Mira Plus®, após a sua calibração. De acordo com informações no bulário para dosagens de CRP (Proteína C-Reativa Blioclin®), a sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média (0,164 mg/l), mais três vezes o desvio padrão (0,171 mg/l), e é igual a 0,676 mg/l.

*Crítérios de exclusão:* Animais que apresentaram resultados reagentes positivos na RIFI para toxoplasmose e leishmaniose e soroaglutinação positiva para leptospirose e/ou positivos para as hemoparasitoses no IDEXX SNAP® 4Dx® Plus foram excluídos dos G2 e G3. Destes mesmos grupos foram excluídos animais que possuíam alteração em hemograma e perfil bioquímico compatíveis com nefropatias e hepatopatias, além de alterações clínicas compatíveis com outras alterações sistêmicas, como cardiopatias, gastroenteropatias, dermatopatias, neuropatias e uropatias.

Foram excluídos de G1 animais que possuíam, em seus registros clínicos e exames laboratoriais, outras comorbidades não infecciosas potenciais causadoras de processos inflamatórios sistêmicos e que eventualmente pudessem elevar os níveis da CRP, objetivando restringir ao máximo os casos de alterações oculares secundárias às doenças sistêmicas infecciosas testadas, neste grupo.

*Análise estatística:* O tamanho amostral requerido em cada grupo consiste em um número mínimo de 22 cães para assegurar um nível de 95% de confiança e um poder de teste estatístico da ordem de 80% na detecção de uma diferença

mínima significativa entre os grupos da ordem de 35% de variação entre os resultados estatísticos representantes dos grupos [1].

Os resultados foram analisados utilizando a técnica de análise de variância não paramétrica (Teste Kruskal-Wallis), complementada com o teste de comparação múltiplas de Dunn [38].

## RESULTADOS:

Dentre os animais do G1 com uveítes, 78,2% foram reagentes para IgM e/ou IgG para Toxoplasmose, 52,2% foram positivos para *Ehrlichia* spp. e 4,3% para *Anaplasma* spp.

Os valores mínimos, 1º quartil, mediana, 3º quartil, valores máximos, médias e desvio padrão das concentrações (mg/l) de CRP no G1, G2 e G3 estão apresentados na tabela 1.

**Tabela 1.** Valores de CRP em mg/l nos três grupos experimentais.

Grupo	Valor mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Valor máximo	Média	Desvio padrão
G1	0,43	0,84	1,37b	3,74	6,55	2,27	1,85
G2	0,00	0,07	0,23a	0,96	3,66	0,66	0,93
G3	0,00	0,00	0,04a	0,43	2,43	0,39	0,67

Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos. G1>(G2=G3).

Verificou-se maiores valores de CRP no G1 em comparação com o G2 e G3 ( $P < 0,001$ ).

Os resultados do G1 para toxoplasmose, leishmaniose, leptospirose e das hemoparasitoses, além dos valores obtidos de CRP estão descritos no anexo 1, bem como os dos grupos G2 e G3 estão listados no anexo 2.

A distribuição dos cães com titulação para Toxoplasmose (IgM ou IgG) está descrita na tabela 2. Em relação ao G2, as afecções oculares estão descritas na tabela 3.

**Tabela 2.** Distribuição da titulação das Imunoglobulinas dentre os cães do G1 acometidos por Toxoplasmose

Imunoglobulina	Titulação de Toxoplasmose			
	0	16	64	256
IgM	7 (30,4)	2 (8,7)	11 (47,8)	3 (13,1)
IgG	9 (39,2)	5 (21,7)	4 (17,4)	5 (21,7)

**Tabela 3.** Prevalência das afecções oculares primárias diagnosticadas nos cães do G2.

Afecções	Porcentagem
Ceratites ulcerativas traumáticas	28,57%
Proptose traumática	21,42%
Ceratites ulcerativas de outras causas*	21,42%
Ceratoconjuntivite seca	14,28%
<i>Cherry eye</i>	14,28%
<b>*Cílios ectópicos e entrópio.</b>	

#### DISCUSSÃO:

O estudo reforça a aplicabilidade do biomarcador CRP, como ferramenta a ser instituída na prática oftalmológica, em especial nos casos desafiadores de uveíte.

Os níveis séricos de CRP maiores nos cães que apresentavam afecções oculares associadas às doenças sistêmicas (G1) comparativamente aqueles com afecções oculares primárias (G2) indicaram que a presença de doenças sistêmicas induz resposta inflamatória de fase aguda mais intensa, e assim, maior a liberação da CRP pelos hepatócitos. Em estudo envolvendo cães infectados experimentalmente por *Ehrlichia canis*, os maiores valores de CRP foram encontrados nos momentos de manifestações clínicas da doença [19], fato este que vem ao encontro da hipótese de que aqueles animais do G1 que apresentaram quadros de uveíte secundária a erliquiose apresentaram maiores valores séricos de CRP.

Em contraste à ausência de diferença significativa entre os animais com inflamações oculares primárias e animais sadios, um estudo envolvendo 116 cães relatou aumento significativo das concentrações de CRP tanto em animais com alterações inflamatórias locais (n=42) - processos cicatriciais de feridas cirúrgicas sem critérios de SIRS – quanto em animais com quadros de SIRS/sepsis (n=54), quando comparados ao grupo controle (n=20) e esta diferença foi mais proeminente comparando os cães com SIRS/sepsis aos com inflamação local isolada [35].

A presença de doença sistêmica nos animais de G1, deve ser apontada como principal indutora dos valores elevados da CRP neste grupo, uma vez que as alterações oculares primárias não promoveram aumento significativo quando comparada aos animais sadios do grupo controle. A hipótese para justificar a ausência desta observação pode ser devido ao mecanismo organizado de sinalização e ativação de células inflamatórias presente na estrutura ocular denominado Desvio Imunológico Associado à Câmara Anterior (ACAID) [7].

Assim, perante um processo inflamatório ocular primário, citocinas responsáveis por modificar a expressão de moléculas específicas em células apresentadoras de antígenos (APCs) migram para órgãos linfoides primários e coativam linfócitos CD8+ regulatórios os quais são capazes de modular a resposta de hipersensibilidade tardia e assim, minimizar efeitos colaterais da imunidade inata e adaptativa [7]. A resposta de fase aguda ocorreria de forma mais branda assim como a liberação das PFA, desviando a resposta inflamatória daquela que ocorreria em demais órgãos [7]. Porém, num quadro inflamatório ocular associado a uma doença infecciosa, ocorre um desequilíbrio inflamatório e a ruptura da barreira hematoaquosa juntamente com a neovascularização, que permitem a infiltração de APCs do sangue periférico, conferindo uma resposta inflamatória semelhante à de outros órgãos [7].

As afecções oculares primárias observadas neste estudo como ceratites ulcerativas, perfurações oculares traumáticas, ceratoconjuntivites (Figura 1), *cherry eye*, entre outras, não desencadearam resposta inflamatória de fase aguda similar aos animais com doença sistêmica concomitante. Em contraste, foram observadas elevações significativas de CRP em estudo com cães portadores de doença periodontal (n=11) os quais não possuíam evidências de doenças sistêmicas concomitantes comparados a animais sadios (n=28) [29], possivelmente pela diferença na característica tecidual. Contudo, destaca-se que nesse estudo não foram realizados testes que comprovassem a inexistência de doenças sistêmicas tanto nos cães com doença periodontal quanto nos do grupo controle.

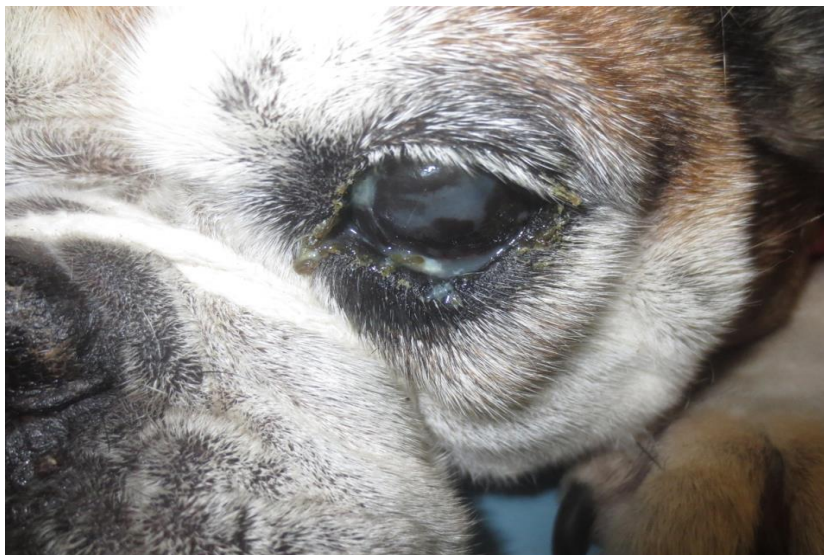


Figura 1 – Cão da raça Boxer apresentando secreção mucopurulenta, crostas e pigmentação corneal devido a ceratoconjuntivite seca. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária do HV-FMVZ/Botucatu.

Quanto às causas infecciosas indutoras de inflamação sistêmica de uveíte em cães (Figura 2), o agente infeccioso em maior prevalência foi *T. gondii.*, em contraste ao mencionado na literatura consultada, a qual observou maior prevalência por *Ehrlichia canis* [15, 25].

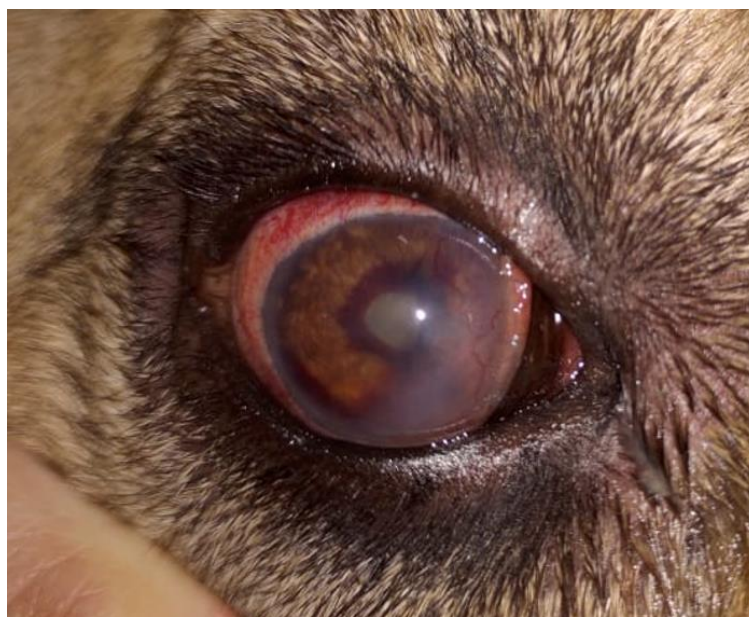


Figura 2 – Uveíte, hiperemia conjuntival, edema e vascularização corneal, *rubeosis iridis*, catarata hipermetura em cão da raça Fila Brasileiro reagente para *Ehrlichia* spp. Fonte: Serviço de Oftalmologia Veterinária do HV-FMVZ/Botucatu.

Ressalta-se a escassez de estudos evidenciando as repercussões oculares da infecção por *Toxoplasma* sp. em cães na literatura consultada. Apesar de autores terem afirmado que a forma ocular da toxoplasmose é rara [4, 31], a

importância desta doença foi ressaltada como indutora de uveíte em população estudada, pois num estudo de 75 cães com alterações oculares, 52% foram reagentes para IgM e/ou IgG e, dentre estes, 72% reagentes para IgG e 87% para IgM) [27].

A presença de anticorpos IgM anti-*T. gondii* em 89,47% dos positivos para esta doença sugere uma infecção recente pelo parasita, como afirmado no estudo supracitado [27]. Sendo assim, os maiores valores de CRP encontrados nestas mesmas amostras foram compatíveis com o quadro inflamatório associando as alterações oculares e sistêmicas desta doença.

A utilização do soro como material de análise para o estudo limitou a realização da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) que seria um método altamente sensível e específico para afirmar que os animais estavam na fase aguda da doença [20].

O uso das PFA ainda não é rotineiro na Medicina Veterinária devido à baixa disponibilidade de kits comerciais, resultando em elevado custo validados para a espécie canina e felina e outro importante fator que limita seu uso é a inespecificidade da doença, sendo observados aumentos séricos em diversas enfermidades envolvendo inflamação sistêmica [4, 21]. A observação de que mesmo de forma inespecífica estes valores podem auxiliar e excluir fatores infecciosos podem estimular o seu uso em casos desafiadores de uveíte, além de outras áreas já representativas e amenizar o custo da dosagem, similar a medicina humana.

Análises laboratoriais clínico-patológicas da infecção por toxoplasmose em cães, incluindo dosagens de proteínas de fase aguda, são restritos na literatura, dificultando a comparação dos resultados obtidos com outros estudos.

Baseado no conhecimento dos autores, estudos sobre a CRP em Oftalmologia Veterinária também são escassos na literatura. Sendo assim, este trabalho destaca a possibilidade da dosagem da CRP nesta área, correlacionando seu aumento a processos inflamatórios/infecciosos sistêmicos e quadros inflamatórios oculares primários.

### **CONCLUSÃO:**

A CRP é um biomarcador efetivo na presença de uveítes associadas a toxoplasmose e erliquiose canina, apresentando potencial aplicabilidade na clínica oftalmológica como indicadora de doença infecciosa concomitante, auxiliando no diagnóstico diferencial. Novos estudos correlacionando o prognóstico do processo inflamatório ocular secundário ou não a doenças sistêmicas após o tratamento clínico com a dosagem de proteínas de fase aguda devem ser estimulados.

### **REFERÊNCIAS:**

1. Cochran, W. 1977. Sampling techniques, 3th ed., New York: John Wiley. 448p.
2. Colitz C. M. 2005. Feline uveitis: diagnosis and treatment. *Clinical techniques in small animal practice*, **20**(2): 117–120.
3. Cullen, C. H. and Webb, A. .2007. Ocular manifestations of systemic disease part 1: the dog. pp. 1470-1537. In: Gelatt, K. N., Veterinary Ophthalmology, 4th ed. Blackwell Publishing, Iowa.
4. Cyrino, M. A. Biomarcadores Inflamatórios e do Estresse Oxidativo na Piometra Canina. 2020. 82p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia

Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu.

5. D'ark-moretti, L, Ueno, T. E., Ribeiro, M. G., Aguiar, D. M., Paes, A. C., Pezerico, S. B. and Silva, A. V. 2002. Toxoplasmose em cães coinfectados com o vírus da cinomose. *Semina: Ciências Agrárias*, **23**(1): 85-91.
6. Eckersall, P. D. and Conner, J. G. 1988. Bovine and canine acute-phase proteins. *Veterinary Research Communications*, **12**: 169-178.
7. English, R. and Gilger, B. C. 2013. Ocular immunology. pp. 273-299. In: *Veterinary Ophthalmology*, 5th ed (Gelatt, K.N., Gilger, B. C. and Kern, T. J.), John Wiley & Sons, New Jersey.
8. Gaff, H. D.; Aff, H. D.; Kogan, K. M; Sonenshine, D. E. 2013. Tick-borne Rickettsiosis II (Anaplasmatataceae). p. 251-277. In: *Biology of Ticks*. 2<sup>a</sup> ed. Oxford University Press.
9. Goldman, E. E.; Breitschwerdt, E. B.; Grindem, C. B.; Hegarty, B. C.; Walls, J. J.; Dumler, J. S. 1998. Granulocytic ehrlichiosis in dogs from North Carolina and Virginia. *Journal of Veterinary International Medicine* **12**(2): p. 61–70.
10. Hardy, R. M. 1981. General physical examination of the canine patient. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* **11**(3): p. 453-467.

11. Hendrix, D. V. H. 2011. Diseases and surgery of the canine anterior uvea. In: *Veterinary Ophthalmology*, 1st ed. (Gellat, K. N.), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
12. Hendrix, D. V. H. 2014. Diseases and surgery of the canine anterior uvea, pp. 276-300. In: *Veterinary ophthalmology*, 5th ed. (Gellat, K. N.), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
13. Jansen, L. M., Van Der Horst-Bruinsma, I. E., Van Schaardenburg, D., Bezemer, P. D. and Dijkmans, B. A. 2001. Predictors of radiographic joint damage in patients with early rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* **60**: 924–927.
14. Komai, Y., Saito, K., Sakai, K. and Morimoto, S. 2006. Increased preoperative serum C-reactive protein level predicts a poor prognosis in patients with localized renal cell carcinoma. *BJU Internacional* **99**: 77–80.
15. Leiva, M., Naranjo, C. and Peña, M. T. 2005. Ocular signs of Canine Monocytic Ehrlichiosis: A retrospective study in dogs from Barcelona, Spain. *Veterinary Ophthalmology* **8**(6): 387-393.
16. Low, D. G. 1971. General examination of dogs. *Veterinary Clinics of North America* **1**(1): 3-14.
17. Lucas, S. R. R., Hagiwara, M. K., Reche Jr., A. and Germano, P. M. L. 1998. Occurrence of antibodies to *Toxoplasma* in cats naturally infected with immunodeficiency virus. *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science* **35**(1): 41- 45.

18. Martin, C. L. Ocular manifestations of systemic disease. 1999. In: Gelatt, K. N. *Veterinary Ophthalmology*, 3 ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p. 1401–1504, 1999.
19. Martínez-Subiela, S., Tecles, F., Parra, M. D. and Céron, J. J. 2001. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinária. *Annals Veterinary* **17**: 97-114.
20. McBride, J.W., Corstvet, R.E., Gaunt, S.D., Chinsangaram, J., Akita, G.Y., Osburn, B.I. 1996. PCR Detection of Acute Ehrlichia Canis Infection in Dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **8**(4):441-447.
21. Munhoz, T. D., Faria, J. L. M., Hernandez, G. V., João, C. F., Pereira, W. A. B., André, M. R., Machado, R. Z. and Tinucci-Costa, M. 2009. Mensuração da proteína c-reativa na infecção experimental por *Ehrlichia canis* (amostra jaboticabal) e após o tratamento com cloridrato de doxiciclina em cães. *Veterinária Notícias* **15**(2).
22. Nakakura, M., Takahashi, M., Ohno, K., Koshino, A., Nakashima, K., Setoguchi, A. and Fujina Y. 2008. C-reactive protein concentration on dogs with various diseases. *Journal of Veterinary Medical Science* **70**: 127-131.
23. Ohno, K., Yokoyama, Y., Nakashima, K., Setoguchi, A., Fujino., Y and Tsujimoto, H. 2007. C-reactive protein concentration in canine idiopathic polyarthritis. *The Journal of Veterinary Medical Science* **68**: 1275–1279.

24. Pavlidis, A.N., Kalef-Ezra, J., Bourantas, L.C., Lambrou, A. and Mavridis, A. 1993. Serum tumor markers in non-Hodgkin's lymphomas and chronic lymphocytic leukemia. *The International Journal of Biological Markers* **8**: 14–20.
25. Pinto, A. B. T. & Carvalho, C. B. 2013. Oftalmopatias na erliquiose monocítica canina. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal* **6**(12): 442-452.
26. Read, J. A., Choy, S. T., Beale, P. J. and Clarke, S. J. 2006. Evaluation of nutritional and inflammatory status of advanced colorectal cancer patients and its correlation with survival. *Nutrition and Cancer* **55**: 78-85.
27. Rodrigues, N. J. L. Resposta sorológica de anticorpos das classes IgM e IgG anti *Toxoplasma gondii* em cães com alterações oculares. 2020. 21p. Trabalho de conclusão de residência (Residente em área profissional da saúde em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.
28. Skotarczak, B. 2003. Canine ehrlichiosis. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* **10**:137–141.
29. Simões, G. J. M. Avaliação dos níveis séricos de proteína c-reativa em cães com doença periodontal. 2016. 76p. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa.
30. Stillman, B.A., Monn, M., Liu, J., Thatcher, B., Foster, P., Andrews, B., Little, S., Eberts, M., Breitschwerdt, E.B., Beall, M. and Chandrashekar, R. 2014. Performance of a commercially available in-clinic ELISA for

detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Ehrlichia ewingii* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. *Journal, of American Veterinary Medical Association* **245**(1).

31. Swinger, R.L. Schmidt, K.A. and Dubielzig, R.R. 2009. Keratoconjunctivitis associated with *Toxoplasma gondii* in a dog. *Veterinary Ophthalmology* **12**(1): 56-60.
32. Tavares, D.C. Transtornos reprodutivos causados por agentes infecciosos em animais de canis comerciais da microrregião de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. 2015. 92p. Tese (Doutor em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal.
33. Townsend, W. M. 2008. Canine and feline uveitis. *Veterinary Clinics Small Animal Practice* **38**(2): 323-346.
34. Torrente, C., Manzanilla, E. G., Bosch, L., Fresno, L., Alamo, M. R., Andaluz, A., Saco, Y. and Gopegui, R. R. 2015. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* **25**(5): 611–619.
35. Ulman, L. S., Guimarães, F. F., Fornazari, F., Tome, R. O., Camossi, L. G., Greca, H., Silva, R. C., Menozzi, B. D. and Langoni, H. 2008. Ações de vigilância continuada, papel do cão como animal sentinela para toxoplasmose. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* **17**(1): 345-347.

36. Zar, J.H. 2009. *Bioestatitcal analysis*, 5 ed. New Jersey: Prentice-Hal, 994 p.

**Anexo 1 – Resultados de IgG e IgM para Toxoplasmose (IgG-T e IgM-T), IgG e IgM para Leishmaniose (IgG-L e IgM-L), de soroaglutinação microscópica para Leptospirose, hemoparasitoses e da dosagem de CRP dos animais do G1.**

<b>Animal</b>	<b>IgG-T</b>	<b>IgM-T</b>	<b>IgG-L</b>	<b>IgM-L</b>	<b>Leptospirose</b>	<b>Hemoparasitoses</b>	<b>CRP (mg/l)</b>
1	16	64	Neg	Neg	NR	Neg	6,55
2	256	64	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	0,49
3	16	64	Neg	Neg	NR	Neg	0,77
4	Neg	64	Neg	Neg	NR	Neg	0,74
5	256	16	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	1,05
6	64	64	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	1,34
7	Neg	64	Neg	Neg	NR	Neg	2,23
8	Neg	64	Neg	Neg	NR	Neg	1,13
9	256	64	Neg	Neg	NR	Neg	1,14
10	64	64	Neg	Neg	NR	Neg	5,49
11	256	64	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	5,30
12	16	256	Neg	Neg	NR	Neg	3,96

13	16	256	Neg	Neg	NR	Neg	4,49
14	16	256	Neg	Neg	NR	Neg	1,37
15	256	16	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	0,76
16	Neg	Neg	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	3,09
17	Neg	64	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	1,57
18	64	Neg	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	1,71
19	Neg	Neg	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	2,35
20	Neg	Neg	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	0,43
21	64	Neg	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	4,51
22	Neg	Neg	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp.	1,26
23	Neg	Neg	Neg	Neg	NR	<i>Ehrlichia</i> spp + <i>Anaplasma</i> spp.	0,53

**Pos = positivo, Neg = Negativo, NR = Não Reagente.**

**Anexo 2 – Valores da CRP nos cães dos grupos experimentais G2 e G3.**

<b>Indivíduos G2</b>	<b>CRP (mg/l)</b>	<b>Indivíduos G3</b>	<b>CRP (mg/l)</b>
1	1,32	1	0,28
2	3,66	2	0,00
3	0,61	3	0,38
4	0,07	4	0,00
5	0,56	5	0,00
6	0,25	6	0,43
7	0,48	7	0,00
8	0,08	8	0,28
9	0,96	9	2,43
10	0,06	10	2,00
11	0,00	11	0,00
12	0,00	12	0,00
13	0,00	13	0,00
14	1,56	14	0,60
15	0,00	15	0,19
16	2,24	16	1,20
17	0,26	17	0,00
18	0,17	18	0,60
19	0,07	19	0,07
20	1,66	20	0,00
21	0,20	21	0,00
22	0,21	22	0,00