



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

DIAGNÓSTICO E ABORDAGEM TERAPÊUTICA DAS ENTEROPATIAS CRÓNICAS COM
OU SEM HIPOALBUMINÉMIA NO CÃO - UM ESTUDO RETROSPECTIVO

HELENA SOFIA FARIA GERAZ

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutora Maria Constança Matias Ferreira Pomba

Doutor Fernando António da Costa Ferreira

Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

ORIENTADOR

Dr. Mario González Solís

CO-ORIENTADOR

Doutor Fernando António da Costa Ferreira

2018
LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

DIAGNÓSTICO E ABORDAGEM TERAPÊUTICA DAS ENTEROPATIAS CRÓNICAS COM
OU SEM HIPOALBUMINÉMIA NO CÃO - UM ESTUDO RETROSPECTIVO

HELENA SOFIA FARIA GERAZ

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutora Maria Constança Matias Ferreira Pomba

Doutor Fernando António da Costa Ferreira

Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

ORIENTADOR

Dr. Mario González Solís

CO-ORIENTADOR

Doutor Fernando António da Costa Ferreira

2018
LISBOA

*"Optimism is a strategy for making a better future.
Because unless you believe that the future can be better, it's unlikely you will step up and
take responsibility for making it so.
If you assume that there's no hope, you guarantee that there will be no hope.
If you assume that there is an instinct for freedom, there are opportunities to change things,
there's a chance you may contribute to making a better world. The choice is yours."*

Noam Chomsky

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a toda a equipa do hospital Ars Veterinaria por me ter recebido tão bem e pela partilha de conhecimentos diária. Um agradecimento especial ao Dr. Mário Gonzalez por ter aceite ser meu orientador e ao Dr. Artur Font, pela sua energia, boa disposição e por ser um exemplo a seguir em termos profissionais ¡*Muchas gracias a todos!*

Ao Professor Doutor Fernando Ferreira estarei eternamente grata por todo o apoio e disponibilidade demonstrada, pela autonomia que me proporcionou e por todas as palavras de motivação e coragem que guardarei sempre com especial carinho.

Queria também agradecer a todos os estagiários que tive oportunidade de conhecer durante a minha estadia por Barcelona, especialmente a todos os portugueses por me fazerem sentir sempre em casa, pela sua boa disposição e pelas fantásticas aventuras pela cidade.

Agradeço a toda a minha família por todo o apoio e amor incondicional ao longo destes anos, independentemente da distância que nos separam. Um agradecimento muito especial aos meus pais, por confiarem e acreditarem em mim e por me incentivarem sempre a sonhar mais alto. E, como não podia deixar de ser, obrigada ao “Dali”, o meu companheiro de quatro patas, por todos os dias me mostrar como a vida pode ser tão bonita com os nossos passeios diários inspiradores até à praia e por ser a minha maior motivação para continuar o meu percurso pela faculdade.

Um obrigado às minhas amigas de infância, especialmente à Bárbara, pela sua presença constante na minha vida e porque sei que, por mais “voltas” que a nossa vida dê, haverá sempre tempo para um cafezinho para falarmos sobre tudo e nada ao mesmo tempo, como se o tempo não tivesse passado por nós.

À cidade de Lisboa por me ter trazido amigas fantásticas, em especial à Alé por ter sido a melhor companheira de aventuras por Barcelona que poderia desejar, à Cate por todos os dias me dar novas razões para estar orgulhosa e por ser a co-fundadora do melhor grupo de sempre, à Dan pela sua boa disposição tão característica e contagiante e pelas incontáveis boleias na Cornélia e à Ritinha porque não há palavras para descrever a pessoa fantástica que é. Também não posso deixar de agradecer às meninas que se foram juntando ao grupo e conquistando rapidamente o seu lugar, Nês, Ana e Rato e às meninas que apesar de terem deixado o mundo da veterinária, guardarei sempre a sua amizade. Ritchie, Magz e Nobre.

E finalmente, um obrigado muito especial ao Tiago pela sua eterna paciência, cumplicidade, palavras de carinho e motivação diárias. Por me fazer mais feliz e pelas incontáveis aventuras que ainda nos esperam. Por seres o meu “*best case scenario*”, mesmo sem que te apercebas disso.

DIAGNÓSTICO E ABORDAGEM TERAPÊUTICA DAS ENTEROPATIAS CRÔNICAS COM OU SEM HIPOALBUMINÉMIA NO CÃO - UM ESTUDO RETROSPECTIVO

Resumo

A enteropatia crônica (*Chronic enteropathy* - CE) inclui várias entidades clínicas com a presença de sinais gastrointestinais crônicos (> 3 semanas) mas que respondem de forma diferente ao tratamento. Uma vez excluídas outras causas de vômitos e diarreia crônicos, os diferentes tipos de CEs podem ser divididos em enteropatia responsiva a dieta (*Food-responsive enteropathy* - FRE), enteropatia responsiva a antibióticos (*Antibiotic-responsive enteropathy* - ARE) e enteropatia responsiva aos imunossupressores (*Immunosuppressant-responsive enteropathy* - IRE). Para além desta classificação, as CEs podem também resultar na perda de proteína através do intestino, sendo esta condição denominada como enteropatia com perda de proteína (*Protein-losing enteropathy* - PLE). O tratamento é aplicado de forma sequencial, começando com um ensaio dietético, seguido de antibioterapia se houver falta de resposta à dieta e, finalmente, tratamento com imunossupressores, se a resposta aos tratamentos anteriores for inadequada.

O estudo retrospectivo realizado incluiu 43 animais com CE diagnosticados no Hospital ARS Veterinária em Barcelona. O seu principal objetivo foi integrar as características clínicas, metodologias utilizadas no diagnóstico e na abordagem terapêutica da CE, avaliar a resposta ao tratamento e identificar possíveis fatores associados com o prognóstico como a idade, a gravidade da classificação histopatológica e a concentração de albumina sérica. Os animais foram divididos conforme a resposta ao tratamento sendo que 10 foram diagnosticados com FRE e 33 com IRE. Os animais deste último grupo foram subdivididos conforme a sua concentração de albumina sérica, sendo que 19 foram colocados no grupo com IRE não PLE e os restantes 14 no grupo com PLE. O tratamento com uma dieta comercial hipoalergénica apresentou uma maior taxa de sucesso nos 10 animais diagnosticados com FRE, permitindo a resolução dos sinais clínicos num período médio de 2 semanas. A enterite linfoplasmocítica foi a manifestação histopatológica mais comum nos animais com IRE e a gravidade histopatológica foi frequentemente superior em animais com PLE. Em mais de metade dos animais com IRE não PLE, a administração de corticosteroides foi suficiente para obter uma resolução dos sinais clínicos. Nos animais refratários à corticoterapia foram administrados fármacos imunossupressores adicionais como a ciclosporina, azatioprina, micofenolato de mofetil e o clorambucilo. 11 pacientes com PLE apresentaram-se à consulta num estado mais debilitado, sendo que 4 destes animais necessitaram de um tratamento inicial mais intensivo com a administração um fármaco imunossupressor adicional. A gravidade da hipalbuminémia estava correlacionada com o facto dos animais com PLE serem refratários ao tratamento com prednisolona.

Palavras- chave: Enteropatias crônicas, FRE, ARE, IRE, PLE, diarreia

DIAGNOSIS AND THERAPEUTIC APPROACH OF CHRONIC ENTEROPATHIES WITH OR WITHOUT HYPOALBUMINEMIA IN THE DOG - A RETROSPECTIVE STUDY

Abstract

Chronic enteropathy (CE) includes several clinical entities with chronic gastrointestinal signs (> 3 weeks) but that respond differently to treatment. Once other causes of chronic vomiting and diarrhea have been ruled out, the different types of CEs can be divided into food-responsive enteropathy (FRE), antibiotic responsive enteropathy (ARE) and immunosuppressant-responsive enteropathy (IRE). In addition to this classification, CEs can also result in loss of protein through the intestine, a condition that is known as protein-losing enteropathy (PLE). Treatment is sequentially applied starting with a dietary trial, followed by antibiotic therapy if there is a lack of response to the diet and finally treatment with immunosuppressants if the response to previous treatments is inadequate.

This retrospective study included 43 animals with CE diagnosed at ARS Veterinária Hospital in Barcelona. The main objective has to integrate the clinical characteristics, methodologies used in the diagnosis and therapeutic approach of CEs, to evaluate response to treatment and to identify possible related factors with prognosis such as age, severity of histopathological classification and serum albumin concentration.

Animals were divided by their response to treatment and therefore 10 were diagnosed with FRE and 33 with IRE. Animals included in this last group were subdivided by their serum albumin concentration and 19 were placed in the group IRE not PLE and the remaining 14 in the group with PLE. Treatment with a commercial hypoallergenic diet showed a higher success rate in 10 animals diagnosed with FRE, allowing the resolution of clinical signs within a mean of 2 weeks. Lymphoplasmacytic enteritis (LPE) was the most common histopathological manifestation in animals with IRE and histopathological severity was often superior in animals with PLE. In more than half of the animals with IRE not PLE, the administration of corticosteroids was sufficient to obtain resolution of the clinical signs. Animals showing refractory signs to the corticotherapy were treated with additional immunosuppressant drugs like cyclosporine, azathioprine, mycophenolate mofetil and chlorambucil. 11 patients with PLE were in a more debilitated state and 4 required a more intensive initial treatment with an additional immunosuppressant drug. The severity of hypoalbuminemia was correlated with the fact that animals with PLE were refractory to treatment with prednisolone.

Keywords: Chronic enteropathies, FRE, ARE, IRE, PLE, diarrhea

Índice

Capítulo I- Atividades durante o estágio curricular	1
Capítulo II – Revisão bibliográfica	3
1. Introdução.....	3
2. Anatomia do trato intestinal.....	4
3. Imunidade da mucosa intestinal.....	5
4. Tolerância oral	8
5. Microbioma intestinal	9
6. Patogénese da inflamação intestinal.....	10
6.1. Predisposição genética	12
6.2. Disbiose intestinal.....	13
7. Caracterização das Enteropatias crónicas	14
7.1. Enteropatia responsiva à dieta	14
7.2. Enteropatia responsiva aos antibióticos	15
7.3. Enteropatia responsiva aos imunossuppressores	17
7.4. Enteropatia crónica com hipoalbuminémia	18
8. Índices de atividade clínica	20
9. Diagnóstico	22
9.1. Exames laboratoriais.....	22
9.2. Exames fecais.....	23
9.3. Diagnóstico imagiológico	25
9.4. Biópsia endoscópica ou cirúrgica.....	26
9.5. Citologia gastrointestinal.....	30
9.6. Histopatologia	30
10. Novas ferramentas de diagnóstico	32
10.1. Proteína C-Reativa	33
10.2. Calprotectina.....	33
10.3. S100A12.....	34
10.4. Anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos.....	34
11.1 Tratamento das enteropatias crónicas com níveis de albumina normal.....	35
11.1.1. Antiparasitários.....	35
11.1.2. Dieta	36
11.1.3. Antibióticos.....	39
11.1.4. Imunossuppressores.....	41
11.1.5. Probióticos	44
11.1.6. Prébióticos	46
11.1.7. Transplante de microbioma fecal.....	47
11.2. Tratamento das enteropatias crónicas com hipoalbuminémia	49
11.2.1. Dieta	49
11.2.2. Antibióticos.....	50
11.2.3. Imunossuppressores.....	51
11.2.4. Coloides	52
11.2.5. Antiagregantes plaquetários.....	53
12. Prognóstico das enteropatias crónicas.....	53
Capítulo II – Estudo retrospectivo	55
1. Objetivos.....	55
2. Materiais e métodos.....	55
3. Resultados.....	57
3.1 Caracterização da população em estudo	57
3.2. Sinais clínicos	58
3.3. Análises laboratoriais	61
3.4. Ecografia	63
3.5. Avaliação endoscópica.....	64
3.6. Histopatologia	66

3.7. Tratamento e resposta ao tratamento	68
3.8. Concentração sérica de albumina.....	72
4. Discussão	73
5. Conclusão.....	78
Bibliografia.....	79

Lista de figuras

Figura 1. Esquema representativo da anatomia do sistema digestivo de uma cadela (Adaptado de Budras, 2007).	4
Figura 2. Imagem de microscopia óptica da junção gastroduodenal de um cão. (Adaptado de Bacha, 2016).	5
Figura 3. Imagens representativas da mucosa normal e das lesões mais características possíveis de identificar durante o estudo endoscópico (Adaptado de Slovak et al., 2015). ...	29
Figura 4. Imagem gastroscópica dum animal com hiperemia, edema e descoloração leves (Imagem original).	65
Figura 5. Imagem gastroscópica da zona do piloro demonstrando áreas com erosão (Imagem original).	65
Figura 6. Imagem da duodenoscopia dum animal com hiperemia, edema, descoloração e friabilidade graves e hemorragia e linfangiectasia leves (Imagem original).	66
Figura 7. Imagem de uma duodenoscopia dum animal com a mucosa irregular, friável e uma dilatação dos vasos linfáticos grave (Imagem original).	66

Lista de gráficos

Gráfico 1. Percentagem do tempo de estágio despendido nas diferentes especialidades.....	1
Gráfico 2. Distribuição da população de cães pelo sexo	57
Gráfico 3. Distribuição de idades conforme o diagnóstico de CE	58
Gráfico 4. Distribuição da CC conforme o diagnóstico de CE.....	60
Gráfico 5. Duração aproximada dos sinais clínicos até à obtenção do diagnóstico de FRE .	60
Gráfico 6. Duração aproximada dos sinais clínicos até à obtenção do diagnóstico de IRE não PLE.....	61
Gráfico 7. Duração aproximada dos sinais clínicos até à obtenção do diagnóstico de PLE .	61
Gráfico 8. Concentrações de cobalamina sérica nos animais com CE.....	63
Gráfico 9. Distribuição do grupo de animais com IRE não PLE em função da gravidade histológica do duodeno	66
Gráfico 10. Distribuição do grupo de animais com IRE não PLE em função da gravidade histológica do cólon	66
Gráfico 11. Distribuição do grupo de animais com PLE em função da gravidade histológica do cólon.....	67
Gráfico 12. Distribuição do grupo de animais com PLE em função da gravidade histológica do duodeno.....	67
Gráfico 13. Alterações histopatológicas observadas nas amostras provenientes do intestino de animais com IRE	67
Gráfico 14. Concentração sérica de albumina em T0 e T1 nos animais com PLE sujeitos a um tratamento imunossupressor.....	72
Gráfico 15. Concentração sérica de albumina em T0 e T1 nos animais com PLE sujeitos a um tratamento imunossupressor em conjunto com a transfusão inicial de coloides	72

Lista de tabelas

Tabela 1. CCECAI	21
Tabela 2. Frequência dos sinais clínicos observados	59
Tabela 3. Alterações analíticas presentes nos animais com IRE não PLE.....	62
Tabela 4. Alterações analíticas presentes nos animais com PLE.....	62
Tabela 5. Principais alterações ecográficas nos animais com CE.....	64

Lista de abreviaturas

- ACTH-** *Adrenocorticotropic Hormone* – Hormona adrenocorticotrófica
- AGCC-** Ácidos gordos de cadeia curta
- ALT-** Alanina transaminase
- ANCAs-** *Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies* - Anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos
- APC-** *Antigen presenting cells* – células apresentadoras de antígenos
- ARE-** *Antibiotic-responsive enteropathy* - Enteropatia responsiva a antibióticos
- ASH-** Albumina sérica humana
- AT III-** Antitrombina III
- cANCAs-** Anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos citoplasmáticos
- CC-** Condição corporal
- CCECAI-** *Canine chronic enteropathy clinical activity index* - Índice de atividade clínica da enteropatia crónica
- cCP-** Calprotectina
- CDs-** Células dendríticas
- CE-** *Chronic enteropathy* - Enteropatia crónica
- CFU-** *Colony-forming unit* - Unidades formadoras de colónias
- CIBDAI-** *Canine inflammatory bowel disease activity index* - Índice de atividade clínica da doença inflamatória intestinal
- CRP-** *C-reactive protein* - Proteína C-reativa
- FAS-** Fosfatase alcalina sérica
- FI-** Fator intrínseco
- FISH-** *Fluorescence in situ hybridization* - Hibridização fluorescente in situ
- FRE-** *Food-responsive enteropathy* - Enteropatia responsiva a dieta
- GALT-** *Gut-associated lymphoid tissue* - Tecido linfóide associado ao intestino
- IBD-** *Inflammatory bowel disease* - Doença inflamatória intestinal
- ID-** Índice de disbiose
- IFN- γ -** Interferão-gama
- IgA-** Imunoglobulina A
- IgM-** Imunoglobulina M
- IL-** Interleucina
- IPE-** Insuficiência pancreática exócrina
- IRE-** *Immunosuppressant-responsive enteropathy* - Enteropatia responsiva aos imunossupressores
- kDa-** Quilo Daltons
- LIE-** Linfócitos intraepiteliais
- LPE-** *Lymphoplasmacytic enteritis* - Enterite linfoplasmocítica

LPS- Lipopolissacarídeos

MHC- *Major histocompatibility complex* – Complexo maior de histocompatibilidade

mRNA- *Messenger ribonucleic acid* - Ácido ribonucleico mensageiro

NF-AT - *Nuclear factor of activated T-cells* - Fator de transcrição nuclear de células T ativadas

NF-κB- *Nuclear factor kappa B* - Fator nuclear kappa B

NOD- *Nucleotide-binding oligomerization domain*- Domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos

pANCAs- Anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos perinucleares

PCR- *Polymerase chain reaction* - Reação em cadeia da polimerase

PLE- *Protein-losing enteropathy* - Enteropatia com perda de proteína

PRR- *Pattern recognition receptors* - Receptores de reconhecimento de padrões

qPCR- *Quantitative polymerase chain reaction* - Reação em cadeia da polimerase quantitativa

RAGE- *Receptor for advanced glycation end products* - Recetor de produtos resultantes da glicólise avançada

rRNA- *Ribosomal ribonucleic acid* - Ácido ribonucleico ribossômico

SIBO- *Small intestinal bacterial overgrowth* - Sobrecrecimento bacteriano no intestino delgado

SNPs- Single nucleotide polymorphisms - Polimorfismos de um único nucleotídeo

sRAGE- *Soluble receptor for advanced glycation end products* - Recetor solúvel de produtos resultantes da glicólise avançada

TGF-β- *Transforming growth factor beta* - Fator de crescimento tumoral beta

TGI- Trato gastrointestinal

TLI- trypsin-like immunoreactivity - Imunoreatividade sérica semelhante à tripsina

TLRs - *Toll-like* receptores - Receptores do tipo Toll

TMF- Transplante de microbioma fecal

TNF-α - *Tumor necrosis factor alfa* - Fator de necrose tumoral alfa

TNF-β - *Tumor necrosis factor beta* - Fator de necrose tumoral beta

α1-PI- *Alpha 1-proteinase inhibitor* – Inibidor da alfa 1 protease

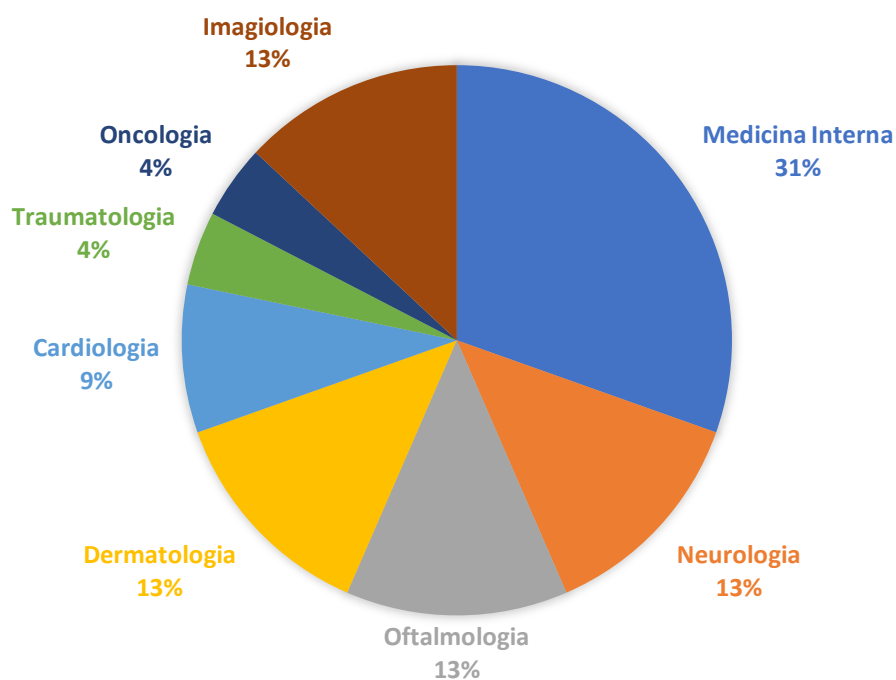
Capítulo I- Atividades durante o estágio curricular

A autora da presente dissertação realizou o estágio curricular no Hospital Ars Veterinária em Barcelona, sob a orientação do Doutor Mario González Solís e a coorientação do Professor Doutor Fernando António da Costa Ferreira. O estágio teve início no dia 1 de novembro de 2017 e terminou no dia 28 de fevereiro de 2018.

Durante o tempo de estágio, a aluna teve a oportunidade de executar rotações semanais pelo serviço de consultas, cirurgia, internamento e cuidados intensivos. Foram realizados turnos de 7 horas diários e dois a três turnos de 12 horas por mês em serviço de urgência durante os fins de semana e/ou feriados.

Durante a rotação pelo serviço de consultas, foi possível assistir a consultas de primeira ou segunda opinião e de seguimento das diversas especialidades oferecidas pelo hospital como Medicina Interna, Neurologia, Oftalmologia, Dermatologia, Cardiologia, Traumatologia, Oncologia e Imagiologia. A aluna foi incentivada a participar ativamente nas consultas externas, realizando o exame físico do animal juntamente com o médico veterinário responsável. Posteriormente eram discutidos quais os diagnósticos diferenciais, exames complementares de diagnóstico e tratamento mais adequados para cada caso clínico. Sempre que possível, cada caso era seguido e acompanhada a realização dos exames complementares como ecografia, ecocardiografia, radiografias e/ou endoscopia.

Gráfico 1. Percentagem do tempo de estágio despendido nas diferentes especialidades.



No serviço de internamento e cuidados intensivos, foi realizado o acompanhamento dos animais internados, exames complementares, cuidados médicos básicos e seguimento da sua evolução clínica. No início de cada turno, todos os estagiários assistiam à passagem de turno dos médicos veterinários responsáveis pelo internamento, no qual eram discutidos todos os casos clínicos, juntamente com os residentes de cada especialidade.

No serviço de Cirurgia, a autora acompanhou os doentes antes, durante e após as cirurgias, realizando a avaliação pré-cirúrgica, ajudando na preparação do doente como colocação de cateteres, entubação endotraqueal, tricotomia, desinfeção e limpeza da zona sujeita à incisão, administração da pré-medicação e a indução anestésica, monitorizando a anestesia e auxiliando, durante o recobro da cirurgia, na avaliação e cuidados pós-cirúrgicos. Foi possível assistir a diversos tipos de cirurgias de tecidos moles como orquiectomia, ovariohisterectomia, piómetra, enucleação, cistotomia, enterectomia com remoção de corpo estranho, herniorrafia perianal, esplenectomia, mastectomia, colocação de bypass ureteral subcutâneo bilateral, ressecção do palato mole, rinoplastia e frenuloplastia, cirurgias ortopédicas como colocação de prótese de anca, técnica de avanço da tuberosidade tibial, osteotomia de nivelamento da meseta tibial, amputação da 3^o falange, osteossíntese de fratura distal do rádio e artroplastia da cabeça do fémur e também vários tipos de neurocirurgia como hemilaminectomia, ventral slot, fenestração toracolombar. Foram ainda visualizadas várias limpezas de boca e destartarizações e algumas cirurgias de mínima invasão como endoscopias, broncoscopias e laparoscopias.

Durante todo o período de estágio foi sempre incentivado o estudo e o interesse pelas diferentes áreas de especialidade através da discussão de casos clínicos e artigos científicos e da assistência a várias formações desenvolvidas diariamente pela equipa de médicos de cada especialidade, residentes ou internos sobre os mais variados temas.

Capítulo II – Revisão bibliográfica

1. Introdução

A enteropatia crônica (*Chronic enteropathy* - CE) inclui várias entidades clínicas com a presença de sinais gastrointestinais crônicos (> 3 semanas) mas que respondem de forma diferente ao tratamento. Uma vez excluídas outras causas de vômitos crônicos e diarreia, os diferentes tipos de CEs podem ser divididos em enteropatia responsiva a dieta (*Food-responsive enteropathy* - FRE), enteropatia responsiva a antibióticos (*Antibiotic-responsive enteropathy* - ARE) e enteropatia responsiva aos imunossupressores (*Immunosuppressant-responsive enteropathy* - IRE). O tratamento é aplicado de forma sequencial, começando com um ensaio dietético, seguido de antibioterapia se houver falta de resposta à dieta e, finalmente, tratamento com imunossupressores, se a resposta aos tratamentos anteriores for inadequada. A definição do termo doença inflamatória intestinal (*inflammatory bowel disease* - IBD) idiopática ainda não é consensual e é, muitas vezes, utilizada de forma ambígua e inadequada na prática clínica. Tecnicamente, diagnóstico de IBD deve ser reservado para um animal com IRE que apresente um infiltrado do inflamatório no trato gastrointestinal (TGI) caracterizado por histopatologia (Allenspach, Wieland, Gröne, & Gaschen, 2007; Dandrieux, 2016; German, Helps, Hall, & Day, 2000; Simpson & Jergens, 2011; Walker et al., 2013; Willard, 2016).

Para além da classificação de acordo com a resposta ao tratamento, as CEs podem também resultar na perda de proteína através do intestino, sendo que esta condição é denominada como enteropatia com perda de proteína (*Protein-losing enteropathy* - PLE), destacando um prognóstico mais reservado em comparação com cães que apresentam uma concentração de albumina sérica normal (Allenspach et al., 2007; Craven, Simpson, Ridyard, & Chandler, 2004; Dandrieux, 2016). Reconhecendo que a maioria dos cães não vai necessitar de um tratamento com imunossupressores, a maioria dos clínicos recomenda a realização de um tratamento empírico sequencial antes da utilização de meios de diagnósticos mais invasivos. Vários autores já demonstraram que a classificação histopatológica não permite diferenciar, de uma forma clara, os casos de FRE de ARE ou IRE (Allenspach et al., 2007; Luckschander et al., 2006; Schreiner, Gaschen, Gröne, Sauter, & Allenspach, 2008). Por essa razão, a endoscopia, embora minimamente invasiva, é normalmente reservada para animais que não responderam à terapêutica com a dieta e antibióticos, de forma a confirmar a presença e o tipo de inflamação intestinal e descartar a presença de tumores intestinais difusos, como o linfoma intestinal (Allenspach et al., 2016; Dandrieux, 2016; Jergens & Simpson, 2012; Washabau et al., 2010). No entanto, cães com uma rápida progressão da doença e dos sinais clínicos ou quando existe uma forte suspeita de uma etiologia neoplásica necessitam, normalmente, de uma

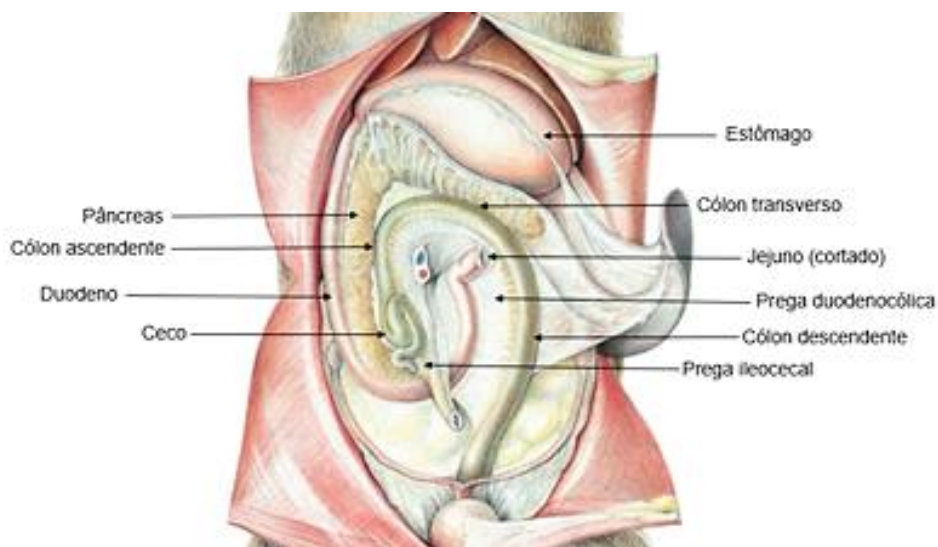
terapia mais agressiva e da utilização de meios de diagnóstico mais invasivos logo numa fase inicial (Simpson & Jergens, 2011).

2. Anatomia do trato intestinal

O intestino delgado estende-se desde porção distal do esfíncter pilórico até ao ceco, estando dividido em três segmentos: o duodeno, local onde desembocam os ductos colédoco e o ducto pancreático ao nível da papila duodenal e ducto pancreático acessório ao nível da papila duodenal menor, o jejuno e, finalmente, o íleo. Cada um destes três segmentos apresenta uma função específica, sendo que é no duodeno que ocorre principalmente a digestão de nutrientes. O jejuno apresenta funções de transporte e absorção enquanto o íleo está especializado sobretudo em funções de absorção de fluídos e eletrólitos (Guilford, 1996).

O intestino grosso inicia-se na junção ileocólica e termina no ânus. Sob o ponto de vista anatómico, está dividido em três regiões: ceco, cólon e reto. O ceco está unido ao cólon pela junção ileocólica. O cólon é dividido em três segmentos: ascendente, que é mais curto e está ligado ao íleo pela válvula ileocólica, transverso e descendente. A válvula ileocólica separa o intestino delgado do grosso e tem como função de impedir o movimento retrógrado das fezes e bactérias (Dyce, Sack, & Wensing, 2017).

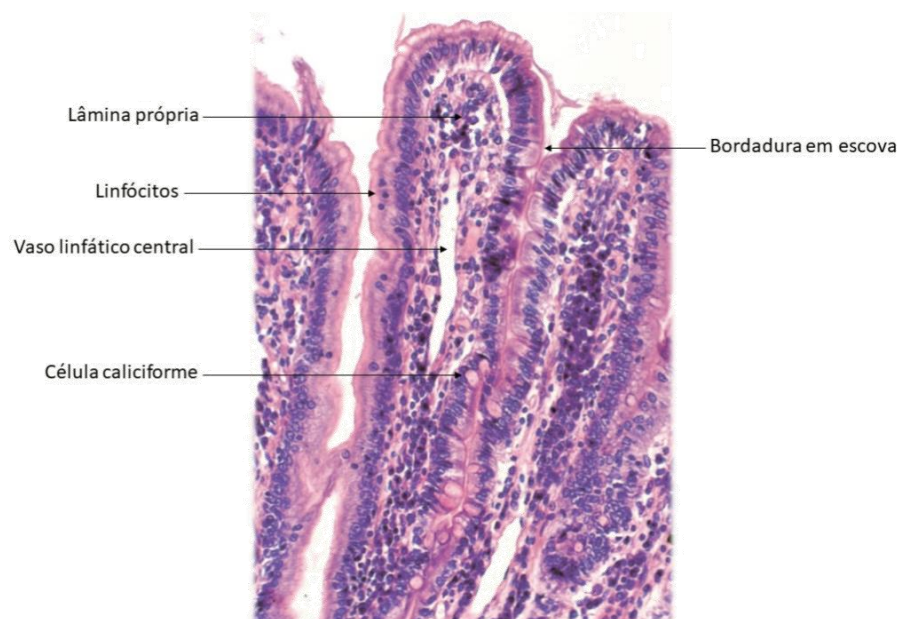
Figura 1. Esquema representativo da anatomia do sistema digestivo de uma cadela (Adaptado de Budras, 2007).



O intestino delgado é formado por pregas macroscópicas, transversais ao eixo maior do órgão, denominadas por válvulas coniventes que aumentam a superfície de absorção. Estas válvulas estão cobertas por vilosidades intestinais que são projeções digitiformes da mucosa cobertas pelo epitélio do intestino e são consideradas a unidade funcional da mucosa do intestino. Fenómenos de mitose das células tronco ao nível das criptas localizadas na base das

vilosidades intestinais dão origem aos enterócitos. À medida que estes vão migrando ao longo das vilosidades em direção ao lúmen intestinal, vão sofrendo um processo de maturação com alteração das suas funções inicialmente secretores nas criptas para funções sobretudo de absorção no topo das vilosidades. Estas células epiteliais apresentam modificações microscópicas na sua membrana luminal designadas por microvilosidades, constituindo a bordadura em escova. Estas modificações anatómicas permitem um aumento extraordinário da superfície de absorção do intestino, sendo que a ocorrência de lesões ao nível da superfície do epitélio intestinal vai ser naturalmente responsável por graves alterações ao nível da absorção de fluídos e eletrólitos e, por consequência, por aumento do conteúdo líquido no trato intestinal. Por outro lado, a mucosa do intestino grosso é completamente desprovida de vilosidades e microvilosidades e é constituída por células epiteliais colunares organizadas em criptas paralelas e rica em células caliciformes (Steiner & Allenspach, 2008).

Figura 2. Imagem de microscopia óptica da junção gastroduodenal de um cão. (Adaptado de Bacha, 2016).



3. Imunidade da mucosa intestinal

O TGI representa uma enorme superfície de contacto constante com os antígenos ambientais. No interior da lâmina própria é possível localizar o tecido linfóide associado ao intestino (*Gut-associated lymphoid tissue - GALT*), constituído por zonas de tecido linfóide como as placas de *Peyer*, que se estendem desde as criptas até ao interior das vilosidades (Junqueira & Carneiro, 2013). O GALT é composto pelos locais indutores, como as placas de *Peyer*, linfonodos mesentéricos e folículos linfóides isolados e os locais efetores constituídos pela lâmina própria e epitélio intestinal. Os antígenos são processados nos locais indutores e nos locais efetores é desenvolvida a resposta imunitária celular e humoral (Tizard, 2013).

A eficácia da imunidade gastrointestinal está dependente da eliminação de substâncias no interior do lúmen da mucosa, sensibilidade ou tolerância aos antígenos que atingem a mucosa e da regulação da resposta imunitária (Murphy, Travers, Walport, & Janeway, 2008).

Existem vários mecanismos de captura e transporte dos antígenos presentes no lúmen intestinal para a lâmina própria. Um destes mecanismos envolve a ação de enterócitos especializados designados por células M que atuam como células apresentadoras de antígenos (*antigen presenting cells*- APC) transportando os antígenos a outros tipos de APC, como os macrófagos e as células dendríticas (CDs). Os antígenos que procedem do intestino são processados e apresentados aos linfócitos B localizados no GALT. Os linfócitos ativados nas placas de Peyer vão sofrer um processo de migração através dos vasos linfáticos até ao ducto torácico. A partir daí, vão circular na corrente sanguínea por todo o corpo e regressar aos tecidos da mucosa através de pequenos vasos sanguíneos na lâmina própria. Nas placas de Peyer, vai ocorrer a diferenciação de linfócitos B em plasmócitos produtores de imunoglobulina M (IgM) que sofrem uma troca de classe para a produção de imunoglobulina A (IgA) e, entram na lâmina própria, como células plasmáticas produtoras IgA. Esta classe é muito mais resistente às enzimas proteolíticas segregadas pela flora intestinal e apresenta importantes funções de defesa da barreira intestinal, impedindo a adesão e invasão da mucosa intestinal por agentes patogénicos (Male et al., 2013; Tizard, 2013).

Por outro lado, os linfócitos T *naive* sofrem um processo de migração através da parede do endotélio vascular para os órgãos linfóides, onde vão encontrar o seu antígeno específico na superfície das CDs, ativando-se e diferenciando-se em linfócitos T auxiliares. Após vários dias de maturação, conseguem recuperar a sua capacidade para deixar os linfonodos, deixando os vasos linfáticos e entrando na circulação em grande número (Murphy et al., 2008).

Quando ocorre uma infeção, as CDs reconhecem as moléculas dos agentes patogénicos, como os lipopolissacarídeos (LPS) bacterianos ou resíduos de manose através dos seus receptores do tipo Toll (*Toll-like* receptores - TLRs) e a sua ativação é iniciada. Elas vão migrar através dos vasos linfáticos em direção aos linfonodos, perdendo a sua capacidade fagocítica e expressando níveis elevados de moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (*major histocompatibility complex* – MHC) de classe I e de classe II, o que lhes permite apresentar peptídeos patogénicos de uma maneira estável, já capturados e processados. Transformam-se assim em CDs maduras, potentes ativadoras de linfócitos T CD4+ e T CD8+. Os linfócitos CD8+ *naive* estão destinados a tornarem-se linfócitos T citotóxicos responsáveis por reconhecer os antígenos apresentados pelas moléculas MHC de classe I e destruir as células infetadas enquanto os linfócitos T CD4+ *naive*, pelo contrário, reconhecem antígenos apresentados por moléculas MHC de classe II e podem diferenciar-se em diferentes tipos de linfócitos T auxiliares.

As principais subpopulações funcionais de linfócitos T auxiliares são linfócitos Th1, Th2, Th17 e os T reguladores. Os linfócitos Th1 promovem uma resposta imunitária celular, secretando

interleucina (IL)-2, fator de necrose tumoral alfa (*Tumor necrosis factor alfa* - TNF- α), fator de necrose tumoral beta (*Tumor necrosis factor beta* - TNF- β) e interferon-gama (IFN- γ), que amplificam a atividade bactericida dos macrófagos e promovem a libertação das bactérias intracelulares dos macrófagos cronicamente infetados e a sua posterior destruição. A IL-2 produzida pelos linfócitos Th1 induz a proliferação dos linfócitos T e potencializa a libertação de fatores de crescimento hematopoiéticos que estimulam a produção de novos macrófagos. O TNF- α têm a capacidade de modificar as propriedades da superfície das células endoteliais de modo a que os fagócitos consigam aderir a estas. Os linfócitos Th1 reconhecem também o antígeno apresentado pelos linfócitos B, ativando a sua proliferação e a diferenciação em plasmócitos responsáveis pela produção de anticorpos opsonizantes (predominantemente IgG). Os linfócitos Th2 estão envolvidos na mediação da resposta imunitária humoral, produzindo citocinas como a IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 que estimulam a proliferação dos linfócitos B e produção de imunoglobulinas, especialmente IgM, IgA e imunoglobulina E. Os linfócitos Th17 são uma subpopulação de linfócitos auxiliares recentemente identificada responsável pela produção de IL-17. Esta IL induz células como os fibroblastos, células epiteliais e queratinócitos a produzirem IL-6, IL-8 e a quimiocina CXCL2 responsáveis pelo recrutamento de neutrófilos para o local de infeção e fatores hematopoiéticos, como o fator de estimulação de colónias de granulócitos e o fator de estimulação de colónias de granulócitos-macrófagos que vão atuar diretamente na medula óssea, aumentando a produção de neutrófilos e macrófagos. Finalmente, os linfócitos T reguladores são responsáveis pela produção de citocinas inibidoras, como a IL-10 e o fator de crescimento tumoral beta (*Transforming growth factor beta* - TGF- β), que inibem a atividade dos linfócitos T e colaboram na tolerância oral aos antígenos (Male et al., 2013; Tizard, 2013).

Ao encontrarem o agente patogénico, a primeira resposta das CDs é sintetizar IL-6 e TGF- β . Na ausência de IL-4, IFN- γ ou IL-12, as duas citocinas produzidas pelas CDs induzem os linfócitos T *naive* a diferenciarem-se em linfócitos Th17. À medida que a resposta imunitária vai progredindo, a produção de IL-6 e TGF- β vai diminuindo, predominando então a diferenciação dos linfócitos T *naive* em Th1 e Th2, existindo uma regulação cruzada entre estes. A IL-10, que é um produto dos linfócitos Th2, consegue inibir o desenvolvimento dos linfócitos Th1 ao suprimir a produção de IL-12 pelas CDs, ao passo que o IFN- γ , um produto dos linfócitos Th1, pode prevenir a produção de linfócitos Th2. Assim, estes efeitos vão permitir que qualquer subpopulação domine a resposta, inibindo a proliferação das células da outra subpopulação (Murphy et al., 2008; Tizard, 2013).

4. Tolerância oral

O sistema imunitário é normalmente capaz de regular a resposta inflamatória contra organismos comensais e antigénios alimentares e manter simultaneamente a sua capacidade de responder a antigénios patogénicos. Esta distinção ocorre sobretudo devido à existência de recetores de reconhecimento de padrões (*Pattern recognition receptors* - PRR) como os TLRs e proteínas com o domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos (*Nucleotide-binding oligomerization domain* - NOD), localizados nas células epiteliais intestinais que respondem a padrões moleculares associados a patogénicos (Kathrani et al., 2014).

Todos os TLRs, exceto o TLR3, utilizam uma proteína adaptadora designada por MyD88, responsável pela ativação de importantes fatores de transcrição como o factor nuclear kappa B (*nuclear factor kappa B* - NF- κ B) e o fator regulador do interferão. Estes fatores, por sua vez, vão ativar genes responsáveis pela transcrição de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1, IL-6 e o TNF- α . Os TLRs apresentam um papel essencial na primeira linha de resistência a microrganismos invasores. O TLR-2 é responsável por sinalizar a presença de diferentes grupos de constituintes bacterianos, os quais incluem o ácido lipoteicoico de bactérias gram-positivas e as lipoproteínas de bactérias gram-negativas. O TLR-4 é um importante recetor na resposta a infeções bacterianas comuns, pois em associação com CD14, um recetor dos macrófagos para LPS e a MD-2 que é uma proteína celular, sinalizam a presença de LPS bacterianos. O TLR-5 é responsável por reconhecer a flagelina bacteriana e o TLR-9 funciona como um sensor para a presença de bactérias intracelulares (Tizard, 2013).

Enquanto os TLRs estão localizados nas membranas celulares, tanto na superfície celular como em vesículas intracelulares, as proteínas com o NOD estão presentes no citoplasma das células e reconhecem fragmentos de proteoglicanos da parede celular de bactérias. As proteínas com o NOD1 ligam-se ao ácido diaminopimélico γ -glutamínico, um produto da decomposição dos proteoglicanos das bactérias gram-negativas e as proteínas com o NOD2 ligam-se ao dipeptídeo muramil, o qual está presente nos proteoglicanos das bactérias gram-positivas e negativas. A oligomerização do NOD1 ou do NOD2 resulta na ativação do NF- κ B nas células epiteliais intestinais, o que vai levar à libertação de citocinas, quimiocinas e defensas antimicrobianas (Murphy et al., 2008; Tizard, 2013). Deste modo, é possível considerar a resposta gerada pelas proteínas com o NOD como uma segunda linha de defesa em caso de ocorrer um fenómeno de tolerância por parte dos TLR localizados na superfície celular (Caruso, Warner, Inohara, & Núñez, 2014).

Citocinas importantes produzidas pelos macrófagos na resposta aos produtos bacterianos incluem TNF- α , IL-8, IL-1 β , IL-6 e IL-12. O TNF- α é um indutor da resposta inflamatória local, aumentando a permeabilidade dos vasos. A IL-8 também está envolvida na resposta inflamatória local, recrutando neutrófilos, basófilos e linfócitos T para o local de infeção. IL-1 β , IL-6 e TNF- α desempenham um papel crucial na indução da resposta de fase aguda,

induzindo os hepatócitos a sintetizar as proteínas da fase aguda e o endotélio da medula óssea a libertar neutrófilos. A IL-12 ativa as células *natural killer* da resposta imunitária inata e favorece a diferenciação dos linfócitos T auxiliares em Th1 (Tizard, 2013).

O principal fator na decisão entre a tolerância e o desenvolvimento de poderosas respostas imunitárias é o contexto no qual o antigénio é apresentado aos linfócitos T presentes no GALT. A presença de bactérias comensais leva normalmente à produção de TGF- β , linfopoietina de estroma tímico e prostaglandina E2 pelas células epiteliais intestinais e mesenquimais, o que permite manter as CDs locais num estado de dormência com baixos níveis de moléculas co-estimuladoras. Quando os antigénios são apresentados a linfócitos T auxiliares presentes nos linfonodos mesentéricos, o resultado é a diferenciação em linfócitos T reguladores. Para além disso, ocorre normalmente a produção de IgA que impede a aderência e a penetração no epitélio das bactérias comensais. A sua presença inibe também ativamente respostas de sinalização mediadas por NF- κ B promovendo a sua remoção do núcleo. Assim, num animal saudável, as bactérias comensais conseguem permanecer numa relação de simbiose com a mucosa intestinal, sem a invadir ou desencadear uma resposta imunitária exagerada (Murphy et al., 2008; Tizard, 2013).

5. Microbioma intestinal

A microbioma intestinal é definida como a coleção de todos os microrganismos vivos que habitam o intestino como bactérias, fungos, protozoários e vírus. Os avanços da microbiologia molecular nos últimos anos, permitiram explorar com um maior detalhe a sua composição, com um número estimado de 10^{10} – 10^{14} células microbianas, um número aproximadamente dez superior ao número de células do hospedeiro. No estômago, há uma predominância de *Helicobacter spp.* mas também é possível encontrar frequentemente, *Actinobacillus* e *Streptococcus spp.* (Garcia-Mazcorro et al., 2011). O intestino delgado é constituído por uma mistura de aeróbios e anaeróbios facultativos como *Clostridium spp.*, Lactobacillales e *Proteobacteria* enquanto a flora microbiana do intestino grosso é constituída quase exclusivamente por anaeróbios como *Clostridiales*, *Bacteroides spp.*, *Prevotella spp.* e *Fusobacteria* (Suchodolski, Ruaux, Steiner, Fetz, & Williams, 2005).

O filo bacteriano *Firmicutes*, compreende membros da classe *Clostridia* como *Ruminococcus*, *Faecalibacterium* e *Dorea spp.* que, em conjunto com espécies dos filos *Bacteroidetes* e *Actinobacteria* como o *Bifidobacterium spp.* possuem um efeito benéfico na saúde do hospedeiro enquanto produtores de metabolitos. Por exemplo, a fonte de nutrientes para estas bactérias são os hidratos de carbono complexos e a sua fermentação resulta na produção de ácidos gordos de cadeia curta (AGCC). Estes AGCC vão atuar como uma fonte de energia essencial para o hospedeiro e como fatores de crescimento para as células do epitélio

intestinal ajudando a regular a motilidade intestinal. Apresentam também importantes propriedades anti-inflamatórias uma vez que são responsáveis pela ativação de linfócitos T reguladores (Arpaia et al., 2013). Outros metabolitos bacterianos como o indol, resultante da degradação do triptofano ou os ácidos biliares secundários apresentam também uma importante atividade anti-inflamatória, regulando a homeostasia imunitária e reforçando a função da barreira intestinal (Bansal, Alaniz, Wood, & Jayaraman, 2010; Duboc et al., 2013). Em contrapartida, é sabido que cada animal apresenta um perfil microbiano único, sendo que fatores genéticos e ambientais têm uma influência direta na sua composição geral. Vários estudos indicam que, apesar de existirem certos géneros de bactérias que constituem o microbioma intestinal básico comum a todos os hospedeiros, cada animal apresenta um ecossistema único ao nível dos filotipos e estirpes bacterianos, com apenas uma pequena sobreposição ao nível de algumas espécies (Suchodolski, 2016).

6. Patogénese da inflamação intestinal

A patogénese da CE ainda não está completamente esclarecida. Graças a vários trabalhos científicos publicados nas últimas duas décadas, é possível hoje afirmar que o seu surgimento está intimamente relacionado com uma desregulação do sistema imunitário do paciente afetado levando a uma produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias (German et al., 2000; Sauter, Allenspach, & Blum, 2007).

O termo IBD em Medicina Humana abrange duas entidades clínicas: a doença de Crohn e a colite ulcerativa. Enquanto que a doença de Crohn está associada a uma resposta imunitária polarizada para Th1/Th7, mediada sobretudo pelo IFN- γ e TNF- α , por outro lado, na colite ulcerativa ocorre sobretudo a produção de IL-13 e IL-5, citocinas associadas a uma resposta Th2 (Sanchez-Munoz, Dominguez-Lopez, & Yamamoto-Furusho, 2008). Em Medicina veterinária, apesar dos vários estudos realizados neste âmbito, ainda não foi possível encontrar um perfil de citoquinas orientado apenas para uma destas respostas. Um estudo realizado por German et al. (2000) procurou avaliar a expressão de RNA mensageiro (*messenger ribonucleic acid* - mRNA) da IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12p40, IFN- γ , TNF- α e TGF- β em 16 amostras de biópsias duodenais de cães da raça Pastor Alemão com CE. Os autores detetaram uma expressão aumentada de mRNA de todas as citocinas testadas exceto da IL-4 e da IL-10, não tendo sido possível identificar uma resposta polarizada para Th1 ou para Th2. Em contrapartida, um estudo controverso elaborado por Peters, Helps, Calvert, Hall, & Day (2005), não encontrou diferenças significativas na expressão do mRNA das citocinas IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, IFN- γ , TNF- α , e TGF- β entre cães saudáveis ou afetados por diarreia crónica. Jergens et al. (2009) descreveram que animais com IBD do intestino delgado apresentavam uma expressão diminuída de IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-10, TNF- α e do IFN-

γ e um aumento da expressão de IL-12p40 enquanto que os animais com IBD do intestino grosso demonstraram uma expressão de IL-2 e TGF-β diminuídas e uma expressão de IL-4 aumentada quando comparadas com o grupo de controlo. Um artigo publicado por Maeda et al. (2012) focou-se na expressão de uma citocina pró-inflamatória, a IL-1β e o seu recetor antagonista IL-1Ra. Estes apresentam um papel fundamental na indução e regulação da inflamação, sendo que a presença de desequilíbrio na sua expressão está, muitas vezes, associado a uma suscetibilidade aumentada para várias doenças em humanos, incluindo a IBD (Arend, 2002). Para este efeito, foi utilizada a técnica quantitativa de reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) em tempo real assim como imunoensaios para calcular a expressão do mRNA em amostras de biópsias de animais caracterizados fenotipicamente com IBD ou linfoma intestinal, assim como amostras de controlo de animais saudáveis. Os autores demonstraram que havia um decréscimo significativo do rácio IL-1Ra:IL-1β em cães com IBD comparando com as amostras de controlo, mas, tal não ocorria em animais com linfoma intestinal. Mais recentemente, num estudo publicado em 2018 foi comprovado que animais com IBD grave exibiam uma expressão aumentada de IL-1β na mucosa intestinal ao passo que em animais com PLE e sinais clínicos de ascite e/ou edema periférico, a expressão de IL-1β não demonstrava diferenças estatisticamente significativas relativamente ao grupo de controlo (Hawes, Riddle, Kirk, Jergens, & Allenspach, 2018).

No geral, ainda não foi possível identificar um padrão óbvio de citocinas diferencialmente expressas em cães com CE. As possíveis razões que justificam estes resultados discrepantes incluem diferenças na metodologia, populações de amostragem, tipos ou fases de progressão da doença entre os vários estudos. Por exemplo, não é possível determinar se a expressão de uma citocina observada num determinado momento será a causa ou consequência da IBD. Para tal, seria necessário obter um registo dos níveis basais da expressão da citocina antes do início da doença e acompanhar os animais ao longo do tempo para determinar se a expressão desta estaria relacionada com a patogénese da CE (Jergens et al., 2009).

Luckschander et al. (2010), encontraram um aumento significativo da expressão do NF-κB em macrófagos e outras células da lâmina própria em animais com CE antes da administração de qualquer terapêutica comparando com o grupo de controlo. Antes do tratamento, cães com FRD apresentavam um maior número de células epiteliais positivas ao NF-κB em comparação com os cães com IBD. Os autores concluíram também que a resposta à terapêutica estava associada a uma diminuição significativa da ativação do NF-κB nos macrófagos da lâmina própria e das células epiteliais. No entanto, não foi possível observar uma correlação positiva entre o NF-κB e a gravidade dos sinais clínicos ou das lesões histológicas.

6.1. Predisposição genética

Nos últimos anos, vários estudos científicos têm sido elaborados com o objetivo de avaliar possíveis defeitos ou desregulações nos PRRs como potenciais contribuidores para a patogénese da inflamação intestinal. Suspeita-se que existam mutações nos PRRs responsáveis pela sua ativação levando a um reconhecimento anormal dos organismos comensais como patogénicos. Tal, por sua vez, seria capaz de desencadear uma resposta imunitária inadequada com destruição da camada de células epiteliais e passagem de antígenos pela barreira intestinal exacerbando a inflamação (Allenspach et al., 2007; Jergens & Simpson, 2012).

Burgener et al. (2008) constataram que cães com IBD demonstravam uma expressão aumentada de TLR2, TLR4 e TLR9 em comparação com animais saudáveis. Posteriormente, num estudo com Pastores Alemães, Allenspach et al. (2010) descobriram que a expressão de TLR4 era superior no duodeno, íleo e cólon de animais doentes em comparação com amostras de cães saudáveis, mas as expressões de TLR2 e TLR9 eram comparáveis às de animais saudáveis. Num estudo clínico realizado no *Royal Veterinary College* por McMahon et al. (2010) foi provado que cães com IBD clinicamente grave apresentavam uma expressão aumentada de TLR2 no duodeno em comparação com cães saudáveis. Para além disso, a expressão de TLR2 estava correlacionada com a gravidade clínica. No entanto, os níveis de expressão de TLR4 eram semelhantes aos do grupo de controlo. Os resultados discrepantes obtidos para a expressão aumentada do gene TLR4 poderão ser atribuídos à diferença no tamanho da amostra ou genes de referência utilizados ou simplesmente ao facto de que a expressão aumentada de mRNA poderá não estar diretamente relacionada com o número e/ou tipo de expressão das células inflamatórias da mucosa intestinal dos cães afetados (Burgener et al., 2008; McMahon et al., 2010).

Kathrani *et al.* demonstraram que polimorfismos de um único nucleotídeo (*Single nucleotide polymorphisms* - SNPs) nos genes que codificam TLR4, TLR5 e o NOD2 estavam significativamente associados às CE em cães. Dois SNPs do TLR4 e um SNP do TLR5 foram associados a um aumento do risco de desenvolver IBD em Pastores Alemães (Kathrani et al., 2011; Kathrani et al., 2010). A heterozigotia para 4 SNPs no NOD2 foi também relacionada com a patogénese da IBD em cães. Os mesmos autores identificaram 5 SNPs no NOD2 ligados à IBD apenas em cães da raça Pastor Alemão (Kathrani et al., 2014).

Durante o processo inflamatório e destruição dos tecidos, a clivagem de proteínas pode originar isoformas de recetores de superfície celular que conseguem sequestrar ligandos e impedir a sua ligação a recetores de produtos resultantes da glicólise avançada (*Receptor for advanced glycation end products* - RAGE), podendo assim afetar e modular o processo de sinalização celular normal (Heilmann, 2015). O RAGE solúvel (sRAGE), é capaz de se ligar a proteínas inflamatórias como a S100A12 tendo assim um papel anti-inflamatório importante.

Heilmann et al. (2014) provaram que animais com IBD apresentavam concentrações sistêmicas de sRAGE diminuídas apesar de estas não estarem correlacionadas com a gravidade dos sinais clínicos, lesões histopatológicas, resposta ao tratamento ou prognóstico da doença. Um resultado interessante neste estudo foi que as concentrações sRAGE apenas aumentaram em cães que já se encontravam em remissão clínica completa e mantiveram-se iguais ou diminuídas em cães que não responderam ou apresentaram apenas uma resposta parcial ao tratamento.

6.2. Disbiose intestinal

As bactérias presentes no intestino vivem numa relação delicada com o hospedeiro sendo que muitas se encontram aderentes à mucosa e têm, portanto, um papel importante na estimulação da imunidade intestinal. Alterações da dieta repentinas ou da própria estrutura do intestino com uma influência direta na motilidade intestinal podem levar a modificações significativas nas populações bacterianas. Um microbioma anormal pode ser a causa de uma absorção de gordura ineficaz, destruição das enzimas da bordadura em escova e das proteínas transportadoras e de uma alteração pela competição de nutrientes como a vitamina B12 (Belkaid & Hand, 2014; Suchodolski, 2016; Tizard & Jones, 2018). Não existe atualmente um método *gold standard* que permita avaliar a presença de disbiose intestinal. Apesar de ainda não se encontrarem disponíveis para a prática clínica, no campo da investigação são usadas técnicas moleculares mais avançadas como o *next generation sequencing* de forma a analisar o microbioma intestinal (Suchodolski, 2016).

Estudos recentes realizados por Suchodolski, Dowd, Wilke, Steiner, & Jergens, (2012) e Honneffer, Minamoto, & Suchodolski, (2014) utilizando técnicas de sequenciamento do gene 16S do ácido ribonucleico ribossômico (*Ribosomal ribonucleic acid* - rRNA) associaram a presença de disbiose em animais com CE com a gravidade histopatológica. Os autores encontraram um aumento da proporção de bactérias pertencentes ao filo *Proteobacteria* como a *Escherichia coli* e um decréscimo nos filios Fusobacteria, Bacteroidetes e membros do filo *Firmicutes* como *Faecalibacterium*, *Ruminococcaceae*, *Turicibacter* e *Blautia*. Estas alterações têm evidentemente um efeito marcante no metabolismo do hospedeiro, sendo que a diminuição da abundância das populações de *Ruminococcaceae* e *Faecalibacterium spp.* está diretamente correlacionada com uma diminuição da concentração do propionato e aumento do butirato fecal em cães com IRE (Minamoto et al., 2015).

O índice de disbiose (ID) do microbioma é uma medida que procura quantificar a abundância de 8 grupos bacterianos frequentemente alterados em animais com CE usando técnicas de PCR rápidas. A sua principal vantagem é que permite sumarizar os resultados obtidos num único número e definir um intervalo de referência. Um ID inferior a zero indica um microbioma fecal normal, enquanto que um ID igual ou superior a zero indica a presença de disbiose. No

entanto, o ID não permite prever qual o tipo de CE que está a afetar o animal nem qual será a terapêutica mais adequada para este. Também é possível observar um ID superior a zero em animais sujeitos a uma terapêutica antibiótica ou com insuficiência pancreática exócrina (IPE). Por outro lado, até 15% dos animais clinicamente saudáveis podem apresentar um ID aumentado, normalmente localizado no intervalo entre 0 e 2 (Suchodolski, 2016).

A presença de uma disbiose intestinal têm um forte impacto no sistema imunitário do hospedeiro e, normalmente, apenas se resolve após vários meses de terapêutica, mesmo quando os animais já estão saudáveis clinicamente (Minamoto *et al.*, 2015). Enquanto que em alguns cães a disbiose é o principal responsável pelo aparecimento dos sinais clínicos, em outros animais esta é considerada como uma consequência do processo inflamatório subjacente (AlShawaqfeh *et al.*, 2017).

7. Caracterização das Enteropatias crónicas

7.1. Enteropatia responsiva à dieta

Diversos estudos realizados em centros de referência veterinária espalhados pelo mundo indicam que entre 50 a 75% dos cães que sofrem de CE poderão responder unicamente a uma modificação dietética adequada (Allenspach, Culverwell, & Chan, 2016; Allenspach *et al.*, 2007; Mandigers, Biourge, Van Den Ingh, Ankringa, & German, 2010; Marks & McAloose, 2002; Volkmann *et al.*, 2017).

Os animais com FRE são normalmente mais jovens e costumam apresentar um quadro clínico menos grave com concentrações de albumina sérica normais em comparação com animais com IRE. Estes animais apresentam também, com uma maior frequência, sinais característicos de envolvimento do intestino grosso como a presença de muco nas fezes, hematoquémia, tenesmo, aumento da frequência de defecação e do volume fecal (Allenspach *et al.*, 2007). Se a resposta à administração da nova dieta for boa e se os sinais clínicos desaparecem, esta deverá ser continuada. No entanto, existem vários estudos que provam que entre 31 a 75% dos animais após um período teste de 12 semanas com a nova dieta poderão voltar a ser alimentados com a sua dieta original sem desenvolver novamente sinais clínicos (Allenspach *et al.*, 2016; Luckschander *et al.*, 2006; Mandigers *et al.*, 2010). Como não existe atualmente nenhum método que permita determinar se o animal vai sofrer ou não uma recaída, muitos proprietários optam por manter os seus animais com a nova dieta terapêutica, uma vez que o quadro clínico esteja resolvido (Dandrieux, 2016).

Apesar de uma análise detalhada de diversas biópsias recolhidas de animais com FRE ter exibido uma tendência para um número aumentado de eosinófilos, este achado não é suficiente para distinguir os diferentes tipos de CE recorrendo à histopatologia. Assim, em

animais que estão a comer, vários autores recomendam, sempre que possível, iniciar um tratamento dietético adequado antes da utilização de meio de diagnóstico complementares mais invasivos como a endoscopia (Allenspach et al., 2016; Dandrieux, 2016; Hall et al., 2017; Mandigers et al., 2010). No estudo realizado por Luckschander et al. (2006) em que foram utilizados 65 cães com história de diarreia crónica, 39 responderam ao tratamento com uma dieta hipoalergénica em apenas 10 dias. Mais de 70% dos animais apresentavam uma classificação histopatológica com um grau moderado a grave, independentemente se respondiam ou não à terapêutica dietética.

Walker et al. (2013) procuraram examinar quais as alterações histopatológicas, imunohistoquímicas e ultraestruturais observadas em biópsias duodenais provenientes de 20 cães com FRE antes e após seis semanas de tratamento com uma dieta comercial hipoalergénica. A maioria dos animais apresentava inicialmente uma infiltração moderada da mucosa com linfócitos e eosinófilos e alterações estruturais relevantes como atrofia das vilosidades intestinais. Apesar da classificação histopatológica global se ter mantido igual, os autores observaram um decréscimo no número médio de células mononucleares e uma melhoria significativa nas lesões ultraestruturais quando analisadas por microscopia eletrónica. Estas conclusões vieram suportar a ideia que, para além da resolução do quadro clínico, é possível obter uma recuperação da bordadura em escova apenas com a utilização de uma dieta adequada.

7.2. Enteropatia responsiva aos antibióticos

Nos últimos anos, o sobrecrescimento bacteriano no intestino delgado (*Small intestinal bacterial overgrowth* - SIBO) era considerado uma doença com importância clínica definida como uma proliferação descontrolada da microbioma intestinal com um aumento no número absoluto de bactérias presentes. Em humanos, o limite máximo aceitável de unidades formadoras de colónias (CFU) total que crescem em cultura por mililitro de líquido duodenal está estabelecido como 1×10^5 CFU/ml. Em cães, por outro lado, existe uma grande controvérsia quanto a extrapolação destes limites, uma vez que estudos mais recentes utilizando outros métodos de colheita, técnicas de cultura de anaeróbios melhoradas e o PCR permitiram demonstrar que animais clinicamente saudáveis podiam apresentar números acima deste limite. O SIBO é agora reconhecido como um mecanismo patogénico secundário a CE, aparecendo frequentemente também associado a animais com IPE (Hall 2011; Hall et al., 2017).

Os animais com ARE são normalmente mais jovens e de raças grandes, sendo que existe uma predominância da raça Pastor Alemão (Allenspach et al., 2016; German, Day, et al., 2003; Hall, 2011). Os animais apresentam frequentemente sinais de diarreia crónica intermitente acompanhada de perda de peso e/ou um défice no crescimento. Há também

frequentemente uma produção excessiva de gás intestinal que se manifesta como borborigmos e flatulência. O apetite é variável, sendo que a maioria dos cães afetados apresentam polifagia e coprofagia, mas alguns podem apresentar uma anorexia marcada, talvez associada a uma deficiência em cobalamina adquirida (Hall et al., 2017).

No estudo retrospectivo de larga duração realizado por Allenspach et al. (2016) aproximadamente 6.2% da população foi diagnosticada com ARE enquanto no estudo realizado por Volkmann et al. (2017) focando-se nas causas de diarreia crônica, 11% dos animais apresentam ARE de um total de 71% dos animais diagnosticados com CE primária.

A administração de antibióticos durante um período de 4 a 6 semanas de duração é recomendada por vários autores, mas ainda não existem dados publicados que definam um período ótimo de duração (Dandrieux, 2016; Hall, 2011). No caso de um insucesso terapêutico ou uma resposta subótima ou parcial após um período de 2 semanas, está aconselhada uma reavaliação do caso e reconsideração da terapêutica escolhida. Uma equipa de investigadores do *Royal Veterinary College* procuram avaliar o sucesso da resposta a longo prazo em 33 cães que responderam à administração do antibiótico metronidazol 15 mg/kg BID PO. Todos os animais apresentaram recaídas entre 6 a 12 meses após a paragem da administração do antibiótico e a duração do tratamento a que foram submetidos não teve qualquer influência sobre o tempo médio em que estas ocorriam (Allenspach et al., 2016).

Atualmente, existe alguma controvérsia sobre o verdadeiro significado da existência da ARE enquanto entidade clínica. A única ferramenta de diagnóstico fiável é a observação de uma resposta positiva à administração empírica de antibióticos. Este tipo de abordagem apresenta vários inconvenientes que podem levar a um diagnóstico incorreto como a escolha do antibiótico pouco adequado, o aparecimento de resistências caso seja necessário o seu uso prolongado para manter a doença em remissão ou simplesmente o facto da ARE poder ser secundária a outra doença não detetada como uma obstrução intestinal parcial (Willard, 2016). Para além disso, existem ainda evidências indicando que vários casos de ARE diagnosticados em animais mais jovens e com recaídas frequentes acabam por necessitar de uma terapêutica imunossupressora ao longo da sua vida (Hall et al., 2017). Isto levanta uma questão importante sobre até que ponto o uso dos antibióticos é considerado verdadeiramente útil como terapêutica única a longo prazo (Nitzan, Elias, Peretz, & Saliba, 2016).

Os pacientes devem ser tratados tendo sempre em consideração todo o quadro clínico e a resposta ao tratamento empírico deve ser utilizada para avaliar o sucesso da terapêutica. Enquanto que em animais com ARE, o uso de antibióticos ainda é considerado essencial, em outras doenças intestinais que não respondem a antibióticos o seu uso inadequado poderá ser responsável pela exacerbação da disbiose inicial (Minamoto et al., 2015).

7.3. Enteropatia responsiva aos imunossupressores

A IRE surge sobretudo em animais de meia idade ou mais velhos, com uma média de idade de 5 a 6 anos. Não está descrita nenhuma predisposição de género, mas existem algumas raças predispostas como os Sharpeis ou os Pastores Alemães (Hall et al., 2017).

O diagnóstico de IRE é desafiante, envolvendo uma investigação completa e exaustiva de forma a excluir outras causas que provoquem sinais gastrointestinais crónicos como o hipoadrenocorticismo, IPE, parasitismo intestinal, etc. (Jergens & Simpson, 2012; Kent, 2017; Simpson, 2012).

Após a falta de resposta ao tratamento empírico com a dieta e antibióticos, o passo seguinte será optar por um meio de diagnóstico mais invasivo como a endoscopia de forma a visualizar a inflamação da mucosa intestinal, identificar e caracterizar o tipo de células inflamatórias presentes e excluir a possibilidade de uma neoplasia infiltrativa (Allenspach et al., 2016; Dandrieux, 2016; Jergens & Simpson, 2012; Washabau et al., 2010).

A administração empírica com glucocorticoides antes da obtenção dos resultados de histopatologia é desaconselhada e pode dificultar gravemente a obtenção do diagnóstico definitivo (Hall et al., 2017).

Apesar dos sinais clínicos mais comuns serem a diarreia e o vómito crónico, outras queixas frequentes são alterações do apetite como hiporexia, anorexia ou até mesmo polifagia, perda de peso, letargia, dor abdominal, flatulência, poliúria e polidipsia, presença de muco nas fezes, hematoquézia, aumento da frequência de defecação ou tenesmo. Os sinais podem surgir de forma episódica ou podem ir agravando com o tempo, estando por vezes associados a um fator de precipitação (Merrill, 2012).

O objetivo do tratamento de animais com IRE é encontrar um protocolo terapêutico multimodal no qual o paciente esteja clinicamente estável e, se possível, apresente poucos efeitos secundários prejudiciais. Normalmente este consiste numa dieta adequada também utilizada para pacientes com FRE de forma a reduzir a inflamação intestinal e ajudar o organismo a absorver eficazmente os nutrientes essenciais, em conjunto com a administração de fármacos imunossupressores de forma a conseguir modular o sistema imunitário do paciente (Poulin, 2016).

Informação sobre o uso de antibióticos com o objetivo de controlar a disbiose intestinal nestes casos ainda é escassa e frequentemente colocada em questão. Jergens et al. (2010) compararam a utilização exclusiva de prednisona oral ou em combinação com metronidazol em 80 cães com diarreia crónica. Estes autores verificaram que após 3 semanas de tratamento, em ambos os grupos de animais, os sinais de diarreia crónica eram pouco significativos em mais 80% dos cães, não havendo diferenças estatisticamente significativas entre as duas modalidades de tratamento.

7.4. Enteropatia crónica com hipoalbuminémia

A perda de proteína pelo intestino é sinal de disfunção intestinal que pode resultar de lesões ulcerativas ou erosivas da mucosa com uma exsudação secundária de proteínas, congestão e hipertensão linfática com perda de linfa para o lúmen intestinal e cavidade abdominal ou alterações da estrutura da mucosa modificando a sua função de barreira e levando a uma permeabilidade anormal (Allenspach et al., 2016; Dossin & Lavoué, 2011; Gaschen, 2013).

As alterações graves da mucosa intestinal permitem a saída de albumina e globulinas levando ao aparecimento de uma panhipoproteinémia, característica da PLE e que permite, em teoria diferenciá-la de uma nefropatia com perda de proteínas ou de uma hepatopatia, situações em que o animal normalmente apenas apresenta hipoalbuminémia. Na prática, nem sempre é possível verificar esta situação sendo que a PLE pode aparecer associada a concentrações de globulinas séricas diminuídas, normais ou até mesmo aumentadas (Gaschen, 2013).

Doenças frequentemente associadas à PLE incluem linfangiectasia intestinal e outras CE com alterações estruturais significativas da mucosa. Doenças infecciosas intestinais como a histoplasmose, hemorragias gastrointestinais e lesões nas criptas intestinais podem também induzir ao aparecimento de PLE (Craven et al., 2004; Dandrieux, 2016; Dossin & Lavoué, 2011).

A linfangiectasia intestinal é uma condição caracterizada pela dilatação dos vasos linfáticos com perda de linfa para o lúmen intestinal. Pode ser primária (idiopática ou congénita) ou secundária a outra condição que leve a um aumento da pressão linfática como, por exemplo, a infiltração por células inflamatórias na mucosa tornando assim difícil a distinção entre os dois tipos de linfangiectasia. Yorkshire Terriers, Sharpeis, Maltese Terriers, Norwegian Lundehunds e Rottweilers são raças predispostas conhecidas (Dossin & Lavoué, 2011).

Cães da raça Soft-Coated Wheaten Terrier são afetados por uma forma específica e familiar de IBD associada a PLE e a uma hipersensibilidade a vários alergénios alimentares. Em aproximadamente 50% dos casos, surge também, simultaneamente, uma nefropatia com perda de proteínas (Littman, Dambach, Vaden, & Giger, 2000). Afeta normalmente animais com uma idade média de 4 a 6 anos e a progressão da doença nestes casos é normalmente mais rápida e muitas vezes fatal (Allenspach et al., 2016).

Os sinais clínicos podem variar conforme a gravidade da causa principal, da duração da doença e do segmento do intestino afetado. O sinal clínico mais frequente é a diarreia crónica intermitente de intestino delgado acompanhada ou não de vômito e anorexia. A perda de peso e de massa muscular são também reportadas frequentemente. É necessário também ter em conta que, alguns casos de PLE podem não apresentar sinais gastrointestinais crónicos e a sua exploração clínica pode ser até completamente normal (Willard, 2015). Na palpação abdominal pode ser possível detetar um aumento da espessura intestinal e/ou presença de uma massa abdominal (Dossin & Lavoué, 2011).

A albumina é responsável por aproximadamente 70% da pressão oncótica plasmática (Forman, 2016). Assim, nos casos de hipoalbuminemia grave e inferior a 1,5 g/dl, em que a pressão oncótica gerada no espaço intersticial é maior que a pressão oncótica do espaço intravascular pode ocorrer a formação de edema subcutâneo e distensão abdominal. Podem também aparecer sinais clínicos graves como dispneia ou taquipneia derivados da presença de efusão pleural, edema ou tromboembolismo pulmonar (Gaschen, 2013; Willard, 2015). A realização de uma toracocentese e/ou de uma abdominocentese está indicada em casos de dispneia significativa ou desconforto abdominal pronunciado, respectivamente. No entanto, é importante ter em conta que a não ser que seja instituída uma terapêutica específica rapidamente, uma nova perda de fluídos tende a ocorrer rapidamente após a drenagem. A realização de drenagem repetidas vai predispor o paciente a um estado de desidratação e hipovolêmia, aumentando também o risco para a ocorrência de pleurite ou peritonite bacteriana secundária (Mackin, 2016).

O primeiro passo no diagnóstico de PLE será estabelecer qual a origem da perda de proteína. Deverão ser realizadas análises hematológicas, bioquímicas e urianálise de forma a excluir uma possível perda de proteína renal assim como deve ser avaliada a função hepática através da medição dos ácidos biliares pós-prandiais. Situações de vasculite com perda de proteína para o terceiro espaço devem também ser excluídas antes de ser diagnosticada PLE (Gaschen, 2013; Willard, 2015).

A medição do colesterol sérico pode ajudar o clínico a determinar qual a causa da hipoalbuminemia. Animais com PLE apresentam frequentemente uma hipocolesterolemia resultante de uma má absorção dos lípidos e da sua perda pelo lúmen intestinal. Por outro lado, no caso de uma nefropatia com perda de proteínas, o animal tende a apresentar níveis de colesterol séricos elevados (Willard, 2015).

Nos animais com PLE é aconselhado a medição simultânea da fração ionizada do cálcio uma vez que a diminuição do cálcio total poderá ser considerada um artefacto. Tal poderá ocorrer pois entre 40 a 50% do cálcio circula no sangue ligado à albumina, sendo que uma perda desta proteína poderia também levar a uma falsa hipocalcemia total (Gaschen, 2013). Uma diminuição verdadeira da fração ionizada nestes animais poderá ser justificada por uma possível diminuição da absorção intestinal de cálcio secundária à má absorção de lípidos e de vitamina D (Allenspach, Rizzo, Jergens, & Chang, 2017).

A obstrução linfática pode também levar a perda de linfócitos que circulam normalmente nos vasos linfáticos desde as placas de Peyer dos intestinos até aos gânglios linfáticos, comprometendo assim a imunidade celular dos animais afetados (Dossin & Lavoué, 2011; Peterson & Willard, 2003).

Animais com PLE podem também apresentar complicações potencialmente graves como tromboembolismo venoso e arterial. O mecanismo patogénico que explica o estado de hipercoagulabilidade destes animais é multifatorial e inclui a perda intestinal de antitrombina

III (AT III) e hiperagregação plaquetária derivada da hipoalbuminemia e hiperfibrinogenemia presente. Interessantemente, o estado de hipercoagulabilidade tem tendência a não desaparecer após o sucesso do tratamento da PLE, levantando questões sobre qual a verdadeira patogênese desta complicação (Goodwin, Goggs, Allenspach, & Chan, 2010). A confirmação laboratorial da hipercoagulabilidade é difícil de realizar na prática clínica. Está recomendado a realização de um painel de coagulação avaliando o tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, medição da AT III e do dímero D. No entanto, níveis séricos de AT III ou de dímero D dentro do intervalo de referência não excluem um estado de hipercoagulabilidade ou risco de desenvolver tromboembolismo. A tromboelastografia pode ser uma ferramenta útil para identificar hipercoagulabilidade assim como um rácio plaquetas: albumina superior a 240000 também já foi descrito por alguns autores como um marcador fiável (Lahmers, Sellon, & Peterson, 2016). Num estudo prospetivo realizado em 2010, todos os 15 animais com PLE apresentavam um estado de hipercoagulabilidade em comparação com 30 cães saudáveis do grupo de controlo (Goodwin et al., 2010).

Para além do decréscimo da concentração de albumina sérica, os animais apresentam também uma perda do inibidor da alfa 1 protease (Alpha 1–proteínase inibidor – α 1-PI) pelo intestino (Dossin & Lavoué, 2011; Murphy et al., 2003; Willard, 2015). O α 1-PI têm um tamanho semelhante à albumina e é também sintetizado no fígado. Normalmente não é absorvido ou secretado ativamente no intestino, mas animais com PLE apresentam uma perda pronunciada para o lúmen intestinal. Devido à sua atividade anti-proteolítica, é resistente à hidrólise no intestino, sendo, portanto, possível detetá-lo nas fezes. No entanto, como o teste que permite medir a sua concentração fecal é de difícil acesso e interpretação, o diagnóstico de PLE continua a ser apenas realizado através da exclusão de todas outras causas associadas a hipoalbuminemia e pela confirmação histopatológica (Dossin & Lavoué, 2011; Willard, 2015).

8. Índices de atividade clínica

Índices de atividade clínica são sistemas de pontuação que têm como principal objetivo a avaliação da gravidade da doença clínica. Eles foram adaptados de sistemas de pontuação clínica utilizados em medicina humana e projetados para permitir comparações objetivas entre estudos de pesquisa com foco em CEs, mas também para o uso na prática clínica como ferramentas auxiliares no diagnóstico, prognóstico e avaliação da resposta ao tratamento (Jergens et al., 2003; Simpson & Jergens, 2011).

A avaliação dos sinais gastrointestinais e dos parâmetros laboratoriais são os aspetos fundamentais dos sistemas de pontuação. O primeiro a ser desenvolvido foi o índice de atividade clínica da IBD (*Canine inflammatory bowel disease activity index* - CIBDAI) e

consiste num índice numérico para seis sinais clínicos: atitude/atividade, apetite, presença de vômito, consistência das fezes, frequência das fezes e perda de peso. Pontuações possíveis variam de 0 a 3 pontos em cada parâmetro. A gravidade da doença é medida através do somatório de todas as variáveis e é classificada como insignificante (classificação total de 0 a 3), leve (classificação total de 4 a 5), moderada (classificação total de 6 a 8) ou grave (classificação total de 9 ou mais pontos) (Jergens et al., 2003).

Allenspach et al. (2007) introduziram importantes modificações no índice anterior, criando o índice de atividade clínica da enteropatia crônica (*Canine chronic enteropathy clinical activity index* - CCECAI) com o objetivo de definir um índice capaz de prever um prognóstico negativo em cães com CE. Para além da avaliação dos 6 sinais clínicos prévios, os autores incluíram a avaliação dos níveis de albumina, ascite /edema periférico e grau de prurido.

Tabela 1. CCECAI.

Parâmetro	Avaliação
Atitude/Atividade	Normal (0); Ligeiramente diminuída (1); Moderadamente diminuída (2); Gravemente diminuída (3)
Apetite	Normal (0); Ligeiramente diminuído (1); Moderadamente diminuído (2); Gravemente diminuído (3)
Vômito	Nenhum (0); Ligeiro (1) – 1x/semana; Moderado (2) - 2-3x/semana; Grave (3) - > 3x/semana
Consistência das fezes	Normal (0); Fezes ligeiramente moles (1); Fezes moles (2); Diarreia líquida (3)
Frequência das fezes	Normal (0); Ligeiramente aumentada (1) - 2-3x/dia ou detecção nas fezes de sangue ou muco ou ambos; Moderadamente aumentada (2) - 4-5x/dia; Gravemente aumentado (3) - > 5x/dia
Perda de peso	Nenhuma (0); Ligeira (1) - <5 % do peso corporal; Moderado (2) - 5-10% do peso corporal; Grave (3) - 10% do peso corporal

Níveis de Albumina	Albumina >2 g/dl (0); Albumina 1,5 -1,9 g/dL (1); Albumina 1,2 -1,4 g/dl (2); Albumina < 12g/dL (3)
Ascite / Edema Periférico	Nenhum (0); Ligeiro (1); Moderado (2); Grave (3)
Prurido.	Nenhum (0); Episódios ocasionais (1); Episódios regulares mas que param quando o animal está a dormir (2); Constante e acorda para se coçar (3)

Adaptado de Allenspach et al. (2007) e Jergens et al. (2003)

9. Diagnóstico

9.1. Exames laboratoriais

O diagnóstico das CEs pode representar um desafio notável na prática clínica. O principal problema reside no facto de não existirem sinais clínicos patognomónicos e estes serem comuns a várias outras doenças. Antes de avaliar o paciente para a presença de uma doença gastrointestinal primária, é crucial descartar doenças gastrointestinais secundárias que possam estar associadas como doenças hepáticas, pancreáticas, renais, endocrinopatias ou outras doenças subjacentes (Berghoff & Steiner, 2011; Jergens & Simpson, 2012; Simpson, 2012).

Numa fase inicial, deve ser sempre recolhido um banco de dados mínimo com hemograma, perfil bioquímico sérico e urianálise (Berghoff & Steiner, 2011).

Animais com CE frequentemente não apresentam alterações significativas no seu hemograma completo, mas podem desenvolver eosinofilia como consequência de parasitismo gastrointestinal. Neutrofilia também é ocasionalmente observada e pacientes com PLE podem apresentar linfopenia. Em caso de hemorragia gastrointestinal significativa também pode ocorrer anemia (Hall et al., 2017; Jergens & Simpson, 2012; Kent, 2017).

Aumentos leves a moderados nas atividades das enzimas hepáticas no soro ou plasma derivados de uma hepatopatia reativa podem ser observados em alguns pacientes com CE, mesmo na ausência de uma doença hepática primária. O aumento da concentração sérica da lipase pancreática canina medida atualmente como Spec cPL poderá levantar a suspeita clínica de uma possível pancreatite. A IPE representa também um importante diagnóstico diferencial em pacientes com CE pois também se manifesta com perda de peso crónica e

fezes moles. O teste de escolha para o seu diagnóstico em cães é a medição da imunoreatividade sérica semelhante à tripsina (trypsin-like immunoreactivity – TLI) (Berghoff & Steiner, 2011; Hall et al., 2017).

Em cães, o hipoadrenocorticismo atípico sem alterações séricas dos eletrólitos pode levar ao aparecimento de sinais clínicos de doença gastrointestinal e, portanto, está sempre recomendada a medição da concentração basal de cortisol sérico. Concentrações superiores a 2 µg/dl, permitem excluir o hipoadrenocorticismo mas animais que apresentem níveis inferiores 2 µg/dl, a possibilidade de hipoadrenocorticismo deve ser descartada com um teste de estimulação com a hormona adrenocorticotrófica (*Adrenocorticotropic Hormone* – ACTH) (Hall et al., 2017; Simpson, 2012; Steiner & Allenspach, 2008).

Em cães, dois estudos retrospectivos indicaram a hipocobalaminémia como um indicador de prognóstico negativo em animais com CE, destacando a importância de uma medição de rotina e a sua suplementação adequada (Allenspach et al., 2007; Volkmann et al., 2017). A hipocobalaminémia pode ser responsável pelo aparecimento de inapetência, perda de peso, atrofia das vilosidades, má absorção de outras vitaminas e nutrientes, neuropatias centrais e periféricas e imunodeficiências. Absorção de cobalamina é um processo complexo mediado por proteínas transportadoras e pelo fator intrínseco (FI), que é produzido pelo estômago e pelo pâncreas em cães. O complexo cobalamina-FI é normalmente absorvido através de recetores presentes no íleo. Pacientes com CE podem assim apresentar uma hipocobalaminémia pela presença de danos nestes recetores da mucosa ileal ou por competição bacteriana em animais com disbiose intestinal, reduzindo a quantidade desta vitamina hidrossolúvel disponível para absorção. Concentrações de folato diminuídas podem indicar danos na mucosa e uma absorção deficiente ao nível do intestino delgado proximal. Aumentos no folato sérico acompanhados por hipocobalaminémia podem ser atribuídos à síntese bacteriana de folato e incorporação de cobalamina, diminuindo, portanto, a sua absorção intestinal (Hall et al., 2017; Suchodolski, 2016).

9.2. Exames fecais

Pacientes que apresentam sinais clínicos de doença intestinal crónica devem ser sempre avaliados inicialmente quanto à possibilidade de uma infeção parasitária gastrointestinal antes de serem realizados outros testes diagnósticos mais exaustivos e dispendiosos.

Infecções por ancilostomídeos (*Ancylostoma spp.*, *Uncinaria spp.*), ascarídeos (*Toxocara spp.*, *Toxascaris leonina*) e tricuriídeos (*Trichuris vulpis*) assim como a infeção por protozoários como a *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium spp.* podem levar ao aparecimento de diarreia crónica (Berghoff & Steiner, 2011). O exame diagnóstico aconselhado para detetar uma ampla gama de ovos de parasitas de nematodes é a técnica de flutuação fecal com centrifugação. A

centrifugação permite uma recuperação superior de ovos e pode assim ajudar a diminuir o número de resultados falso-negativos (Dryden, Payne, Ridley, & Smith, 2005).

Infeções por *Giardia duodenalis* são uma causa comum de diarreia crônica em cães. Os oocistos de *Giardia* podem ser detetados utilizando técnicas de flutuação fecal, mas a experiência do operador tem um efeito significativo no aparecimento de falsos negativos. Se a flutuação for utilizada, está recomendado o uso de sulfato de zinco em conjunto com a centrifugação, garantindo a flutuação dos quistos e mantendo a sua morfologia (Dryden et al., 2005). A sensibilidade desta técnica pode ser tão baixa quanto 49% se apenas for examinada uma única amostra fecal, mas poderá ser melhorada para mais de 90% examinando 3 amostras fecais de diferentes dias pois as espécies de *Giardia* são frequentemente eliminadas de forma intermitente (Dryden, Payne, & Smith, 2006). Ensaios de imunofluorescência direta utilizando amostras fecais são atualmente considerados o *golden standard* para o diagnóstico de *Giardia*, com sensibilidade e especificidade superiores a 90% (Rishniw, Liotta, Bellosa, Bowman, & Simpson, 2010). Outros testes de diagnóstico para *Giardia* incluem imunoenaios enzimáticos qualitativos e teste SNAP. Todos estes testes apresentam boas especificidades (> 90%) mas as sensibilidades relatadas costumam variar. O teste SNAP pode ser particularmente útil na detecção rápida deste protozoário, ajudando a estabelecer um diagnóstico definitivo, especialmente se for usado em combinação com a técnica de flutuação fecal (Dryden et al., 2006).

A maioria das infeções por *Cryptosporidium parvum*, bem como *Cryptosporidium canis* são subclínicas ou apenas causam sinais clínicos ligeiros. No entanto, em alguns animais, especialmente aqueles que estão imunodeprimidos, pode ocorrer diarreia crônica intermitente e síndrome de má absorção por atrofia e fusão das vilosidades e inflamação subjacente. Para a sua detecção está recomendada a técnica de *Ziehl-Neelsen* modificada ou um teste de imunofluorescência direta (Palmer et al., 2008).

Infeções bacterianas intestinais também podem levar ao aparecimento de sinais clínicos gastrointestinais crônicos e os microrganismos classicamente implicados em cães são *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella sp.*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* ou *Yersinia enterocolitica*. A cultura fecal é uma das técnicas classicamente disponíveis para descartar a presença de uma enterite bacteriana mas a sua utilidade é altamente questionável uma vez que estes microrganismos podem estar presentes na flora intestinal de cães sem doença clínica (German, Hall, & Day, 2003; Hall et al., 2017). O diagnóstico definitivo está dependente sobretudo da correlação com a história e apresentação clínica e com testes diagnósticos adicionais para a detecção de enterotoxinas assim como a demonstração histológica de invasão intestinal por estes microrganismos sempre que tal for possível (Cave, Marks, Kass, Melli, & Brophy, 2002; Guilford & Matz, 2003; Hall et al., 2017).

9.3. Diagnóstico imagiológico

A radiografia simples permite avaliar a posição, conteúdo e tamanho do intestino. No entanto, a utilização deste meio de diagnóstico apresenta geralmente pouca utilidade para o diagnóstico de inflamação gastrointestinal. É possível também realizar radiografias de contraste com bário para observar o tempo de esvaziamento gástrico, presença de corpos estranhos, invaginações, irregularidades difusas na mucosa do intestino delgado, espessamento de segmentos intestinais ou alterações no tamanho do lúmen intestinal. É sempre necessário avaliar se o custo deste procedimento justifica a informação que é possível obter (Steiner & Allenspach, 2008).

O exame imagiológico mais utilizado nestes animais é a ecografia abdominal pois representa um método rápido, seguro e não invasivo para a avaliação diagnóstica de cães com CE, permitindo rastrear obstruções, massas gastrointestinais e outras condições concomitantes como pancreatite, distúrbios hepáticos ou da vesícula biliar. Posteriormente, a maioria dos pacientes vai necessitar, no entanto, de uma investigação mais exaustiva com meios de diagnóstico mais específicos (Gaschen et al., 2008; Hall et al., 2017; Tams, 2003).

Durante a inspeção ecográfica do trato gastrointestinal, é importante avaliar a espessura, aparência e distinção entre camadas da parede, atividade peristáltica, conteúdo e diâmetro luminal, linfonodos adjacentes, ecogenicidade peri-intestinal e a presença de líquido livre. Alterações ecográficas descritas em animais com IBD incluem espessamento transmural difuso ou multifocal, leve a moderado com uma estratificação de parede preservada e ausência de linfadenopatia mesentérica. É importante ter em conta que a observação destas alterações não é suficientemente específica ou sensível para o diagnóstico de IBD (Gaschen, 2011; Leib et al., 2012; Mapletoft, Allenspach, & Lamb, 2018). Apesar de Gaschen et al. (2008) ter sugerido que a ecogenicidade da mucosa poderia ser considerada como um indicador mais sensível da IBD, um estudo mais recente demonstrou que até 50% dos animais saudáveis podiam apresentar focos hiperecogénicos na mucosa intestinal até uma hora após uma refeição (Gaschen et al., 2016).

A presença de estriações hiperecóicas no jejuno apresentou uma sensibilidade de 75% e uma especificidade de 96% para cães com PLE (Gaschen, 2013; Peterson & Willard, 2003). Uma perda completa da definição da camada de parede e espessura da parede superior a 1,5 cm são considerados indicadores mais específicos de neoplasia gastrointestinal (Gaschen, 2011; Leib et al., 2012; Penninck, Smyers, Webster, Rand, & Moore, 2003)

Um estudo prospetivo sobre a utilidade diagnóstica da ecografia abdominal em 87 cães com diarreia crónica constatou que a probabilidade de detetar alterações ecográficas era superior em cães com perda de peso ou com uma massa abdominal ou retal palpável. A utilização da ecografia foi classificada como essencial ou benéfica para o diagnóstico em 15% dos cães, mas em 66% dos animais, o desfecho teria sido o mesmo se esta não tivesse sido realizada

(Leib et al., 2012). Mais recentemente, uma equipa de investigadores do *Royal Veterinary College*, analisaram os registos médicos de 269 cães com diarreia crónica como estímulo iatrotópico, dos quais 149 (55%) tinham realizado ecografia abdominal. A ecografia abdominal teve moderada utilidade em 56 (38%) cães e não demonstrou qualquer utilidade em 79 (53%) cães. Em 10 (7%) cães foi até considerada contraproducente pois levou ao aparecimento de diagnósticos falsos negativos ou falsos positivos (Mapletoft et al., 2018).

9.4. Biópsia endoscópica ou cirúrgica

A colheita de biópsias por endoscopia ou laparotomia exploratória é um passo de extrema importância para o estabelecimento de um diagnóstico definitivo, prognóstico e abordagem terapêutica de CE como a IRE ou a PLE. No entanto, a análise histopatológica dos tecidos não permite detetar distúrbios funcionais nem alterações da motilidade intestinal (Simpson, 2012; Slovak et al., 2014; Washabau et al., 2010).

A decisão de colher amostras para biópsia é geralmente feita após a avaliação dos exames laboratoriais e imagiológicos e tendo sempre em conta o estado de saúde do animal, duração e custo do procedimento e o risco anestésico inerente. Contraindicações para a realização da endoscopia ou laparotomia exploratória incluem uma situação de grave debilitação generalizada, doença cardiopulmonar preexistente, coagulopatia ou hipoproteinémia grave com hipotensão. De forma a minimizar o risco anestésico e reduzir o edema tecidual em animais com PLE está aconselhada a administração de coloides antes da cirurgia bem como a utilização de suturas não absorvíveis e de aposição de omento sobre a superfície serosa da linha de sutura. Outro dos fatores a ter em conta com a realização da cirurgia é que a administração de corticosteroides apenas poderá ser instituída após a completa cicatrização da linha de sutura, uma vez que estes fármacos atrasam a cicatrização de feridas (Jergens, Willard, & Allenspach, 2016; Tams, 2003; Washabau et al., 2010).

A endoscopia é um procedimento mais rápido, menos stressante e invasivo para o paciente, podendo ser mais económica do que a cirurgia. Apresenta também um menor risco de perfuração e peritonite séptica. Permite ao operador observar alterações da mucosa e dirigir a recolha de biópsias para esses locais, ao contrário do que ocorre durante a cirurgia em que apenas é possível observar a serosa do intestino. A colheita de biópsias por cirurgia pode ser indicada se houver suspeita de envolvimento da camada submucosa ou muscular ou quando os resultados da colheita por endoscopia não se correlacionam com a situação clínica do animal. A laparoscopia poderá constituir outra opção viável para obter amostras de espessura total de diferentes seções do intestino (Guilford, 1996; Steiner & Allenspach, 2008; Washabau et al., 2010). Uma das principais desvantagens da endoscopia em relação à laparotomia exploratória é que normalmente são apenas biopsiadas, de forma rotineira, a mucosa do estômago, duodeno e cólon. Às vezes, é possível obter amostras de tecido jejunal e ileal se

o operador em questão tiver alguma experiência na realização do procedimento (Jergens et al., 2016). No entanto, esta abordagem pode resultar que lesões ileais importantes não sejam diagnosticadas com subseqüentemente impacto na obtenção de um diagnóstico definitivo. Um estudo em 2010 levantou dúvidas importantes em relação a credibilidade de biópsias únicas do duodeno em cães com CE. Os investigadores procuraram investigar a concordância existente entre as lesões histopatológicas presentes no duodeno e no íleo de cães com diarreia intestinal mista e concluíram que apenas em 30% dos cães o diagnóstico histopatológico foi o idêntico. Para além disso, o mesmo estudo determinou que as alterações histopatológicas eram frequentemente detetadas mais rapidamente no íleo do que no duodeno (Casamian-Sorrosal et al., 2010). Mais tarde, Procoli, Mötsküla, Keyte, Priestnall, & Allenspach (2013) apresentaram resultados que vieram corroborar a necessidade de recolher biópsias endoscópicas ileais. No seu estudo observaram que 4 de 5 casos apesar de apresentavam importantes alterações na sua mucosa ileal, a mucosa duodenal foi classificada histologicamente como normal.

A preparação adequada do paciente é de extrema importância e permitir otimizar a avaliação das alterações da mucosa e a técnica de biópsia. Para a endoscopia alta, de forma a avaliar completamente o esôfago, estômago e duodeno proximal, é normalmente recomendado o jejum de alimentos, mas não de água durante a noite. Para a realização da ileoscopia/colonoscopia, é necessária a limpeza da mucosa mais completa, utilizando enemas de água morna e soluções laxantes de polietilenoglicol com eletrólitos de forma a visualizar totalmente todas as regiões da mucosa do cólon (Slovak et al., 2014).

A natureza da lesão suspeita deve influenciar a seleção dos instrumentos e método para a colheita de biópsias escolhido. Lesões localizadas como úlceras, massas, estenoses devem ser abordadas biopsiando a zona de transição, o que pode ser difícil ou então biopsiando tecido anormal e normal imediatamente adjacente à lesão. Noutras doenças da mucosa generalizadas, a recolha aleatória de biópsias dos órgãos afetados é suficiente (Guilford, 1996; Jergens et al., 2016). Para ser considerada adequada, uma amostra de biópsia deve conter toda a espessura da mucosa e ser larga o suficiente para ter, pelo menos, três a quatro vilosidades intactas e, de preferência, contíguas. Se a biópsia for realizada por endoscopia é recomendada a recolha de, no mínimo, 6 ou 7 amostras adequadas ou 10 a 15 marginais do estômago e do duodeno, dependendo da lesão diagnosticada (Willard et al., 2008). Se, por outro lado, o clínico optar pela realização da laparotomia exploratória serão necessárias, no mínimo, 3 amostras de tecido de toda a espessura do intestino, cada uma obtida do duodeno, jejuno e íleo. Na presença de linfadenopatia devem também ser realizadas biópsias dos linfonodos mesentéricos e, caso os resultados laboratoriais ou o aspeto macroscópico o indiquem, dos restantes órgãos (Tams, 2003).

As biópsias são retiradas do fórceps com o auxílio de uma agulha hipodérmica e cuidadosamente colocadas numa cassete com uma solução tampão de formalina a 10% para

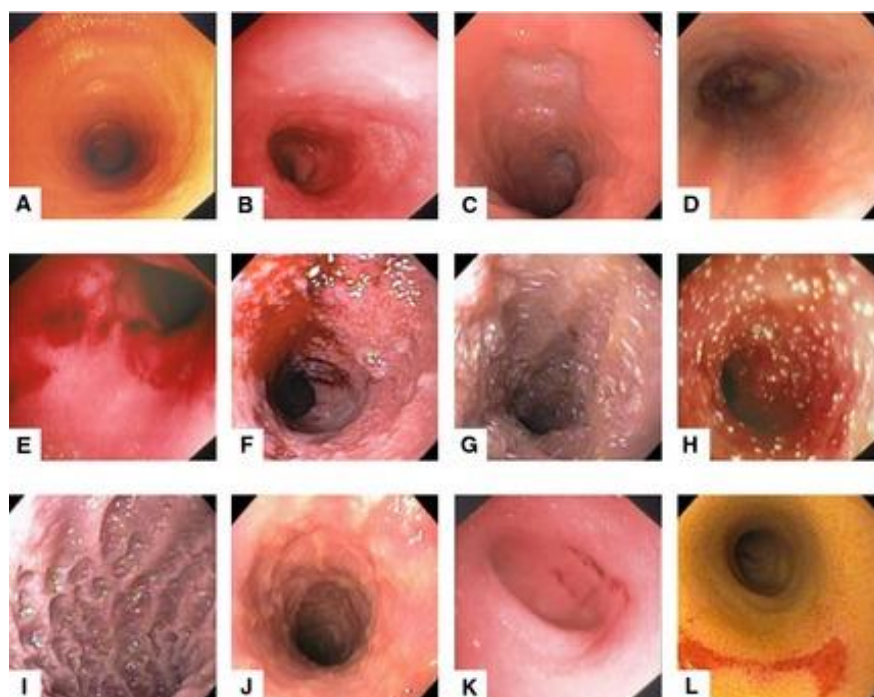
subsequente análise histopatológica (Washabau et al., 2010; Willard et al., 2008). As amostras não devem ser deixadas a secar ao ar, pois o material é muito frágil e sujeito a artefactos. O endoscopista deve registrar sempre o número de amostras obtidas de cada local que deverão ser colocadas em recipientes diferentes em conjunto com a indicação de observações endoscópicas ou dados da história clínica do animal relevantes sobre a amostra recolhida (Jergens et al., 2016). Após serem fixadas com formalina a 10%, as amostras são normalmente coradas com hematoxilina-eosina (Washabau et al., 2010; Willard et al., 2008). Se for necessário aplicar técnicas de imunohistoquímica mais especializadas, as amostras de tecido devem ser congeladas em nitrogênio líquido ou preservadas com outros fixadores que não formalina como, por exemplo, o álcool. Os tecidos preservados por congelamento ou colocados em RNAlater podem ser usados para extração de ácidos nucleicos utilizados em testes moleculares, como PCR ou qPCR (Jergens et al., 2016). A imunohistoquímica tornou-se especialmente útil para o diagnóstico de linfoma intestinal, o que representa um dos maiores desafios diagnósticos para os patologistas devido à suspeita de transição entre a inflamação linfoplasmocítica e o linfoma. A marcação de secções seriadas com antissoros específicos para CD3 (marcador de células T) ou para CD79a (marcador de células B) pode ajudar o patologista a determinar a clonalidade de um infiltrado (Carrasco et al., 2015; Schreiner, Gaschen, Gröne, Sauter, & Allenspach, 2008).

Atualmente não existe uma classificação endoscópica universalmente aceite, embora já tenham sido propostos vários métodos para descrição das alterações observadas durante a endoscopia. Num estudo Allenspach et al. (2007) foi desenvolvida uma classificação endoscópica independente para o duodeno e cólon com um sistema de classificação de 0 a 3. As variáveis avaliadas foram friabilidade, eritema, manchas brancas, úlceras, aparência de dificuldade de insuflação do intestino durante a endoscopia. No entanto, não foi possível encontrar uma correlação entre a classificação endoscópica e histopatológica assim como com os índices de atividade da doença antes e após o tratamento, embora uma classificação de 3 foi associada a um prognóstico negativo. Também García-Sancho, Rodríguez-Franco, Sainz, Mancho, & Rodríguez (2007) publicaram um estudo prospetivo sobre a avaliação clínica, macroscópica e histopatológica em 16 cães com enterite linfoplasmocítica (*Lymphoplasmacytic enteritis* - LPE). As variáveis macroscópicas foram avaliadas no estômago e duodeno do estudo cães consistindo em erosões, eritema, granularidade, presença ou ausência de bÍlis, falta de elasticidade e friabilidade. As variáveis foram classificadas de 0 a 3 e para presença ou ausência de lesões macroscópicas. Neste estudo, todos os cães com LPE apresentavam lesões macroscópicas durante a avaliação endoscópica e 75% dos animais demonstrou uma melhoria macroscópica significativa após o tratamento. Por outro lado, Rychlik et al. (2012) não conseguiram encontrar qualquer tipo de correlação entre a avaliação macroscópica da mucosa e o grau de intensidade da doença. Estes autores referem também que pequenas alterações macroscópicas na morfologia da

mucosa podem corresponder a lesões histopatológicas graves, e vice-versa. Uma razão para esta discrepância observada entre os vários estudos pode ser a variação existente entre os operadores na identificação de anormalidades endoscópicas com base na sua experiência e na falta da existência de um sistema avaliação endoscópica universal. Slovak et al. (2014) demonstraram que o uso de termos descritivos acompanhados de imagens representativas das lesões encontradas na mucosa melhorava significativamente a precisão diagnóstica de endoscopistas iniciantes para um nível próximo de endoscopistas experientes.

Nos casos de PLE, por vezes é possível visualizar macroscopicamente pequenos focos de cor branca na mucosa que correspondem às vilosidades da mucosa distendidas pela acumulação de linfa nos quilíferos (García-Sancho et al., 2007; Mercedes García-Sancho, Sainz, Villaescusa, Rodríguez, & Rodríguez-Franco, 2011; Larson, Ginn, Bell, Davis, & Foy, 2012; Peterson & Willard, 2003). Larson et al. (2012) procuraram correlacionar as alterações endoscópicas encontradas no duodeno com a confirmação histopatológica da IL. Os autores desenvolveram uma escala de classificação com base na granulosidade da mucosa, perda de linfa ativa e presença de focos brancos. A gravidade da IL foi classificada de 0 a 3 e os resultados deste estudo mostraram que a imagem endoscópica apresentava uma especificidade baixa (42%) e sensibilidade moderada (68%) para o diagnóstico de IL em cães.

Figura 3. Imagens representativas da mucosa normal e das lesões mais características possíveis de identificar durante o estudo endoscópico (Adaptado de Slovak et al., 2015).



Legenda: Mucosa normal (A,B); mucosa hiperémica (C,D); mucosa friável (E,F); dilatação linfática (G,H); aumento da granularidade (I,J) e erosões na mucosa (K,L)

9.5. Citologia gastrointestinal

A citologia gastrointestinal é um dos procedimentos que pode ser realizado durante a endoscopia. É uma técnica simples, rápida e pouco invasiva que pode fornecer informações importantes sobre o tipo de infiltração celular antes de ser conhecido o resultado do exame histopatológico. Pode ser realizada por escovagem ou por aposição. Para a técnica de escovagem, são utilizadas escovas descartáveis próprias que são inseridas no canal do endoscópio e depois utilizadas para escovar a superfície mucosa a analisar. A amostra obtida é rolada gentilmente sobre uma lâmina, fixada, corada e observada ao microscópio. No caso da citologia por aposição, uma amostra de mucosa intestinal é removida do fórceps de biópsia e pressionada delicadamente sobre uma lâmina. Assim que as lâminas estejam secas, as amostras podem ser coradas com Diff-Quik para uma examinação imediata ou então podem ser enviadas para análise citopatológica (Jergens, Andreasen, Hagemoser, Ridgway, & Campbell, 1998; Steiner, 2008)

Jergens et al. (1998) recolheram amostras de citologia por ambas as técnicas durante o exame endoscópico do estômago, intestino delgado e cólon em 58 animais. Os autores demonstraram que existia uma excelente correlação com os resultados histopatológicos, com uma alta sensibilidade e especificidade.

9.6. Histopatologia

Nas últimas duas décadas vários grupos de histopatologistas desenvolveram os seus próprios critérios de avaliação da natureza e gravidade da inflamação da mucosa, bem como as alterações morfológicas associadas, criando uma discordância e controvérsia sobre quais os critérios mais apropriados para credibilizar a avaliação histológica (Carrasco et al., 2015; Day et al., 2008; Washabau et al., 2010).

Se por um lado a endoscopia veio facilitar a obtenção de biópsias, por outro veio dificultar o trabalho dos histopatologistas, dado que a avaliação destas é subjetiva e difícil, pelo tamanho reduzido das amostras e pela presença de artefactos que condicionam a sua avaliação correta (Jergens et al., 2016; Willard et al., 2008).

Tendo em conta estas limitações, o grupo para a standardização gastrointestinal da *World Small Animal Veterinary Association* desenvolveu um sistema de classificação histopatológica com critérios padronizados para uniformizar os procedimentos e diminuir a variabilidade na interpretação das amostras. Nas amostras de cada região anatómica (corpo do estômago, antro gástrico, duodeno e cólon) devem ser avaliadas alterações morfológicas e o tipo de infiltrado celular inflamatório predominante no epitélio e na lâmina própria (Day et al., 2008). Jergens et al. (2014) propuseram uma modificação do modelo de avaliação histopatológica desenvolvido anteriormente, mas com a particularidade de ser mais simplificado e com uma

maior aceitação entre os histopatologistas. Neste modelo foi também adicionado o parâmetro “alterações das células caliciformes do cólon”, uma vez que há evidências que a diminuição de células caliciformes possa ser uma causa de colite.

É recomendada a avaliação de parâmetros como a presença de lesões e de linfócitos intraepiteliais, tipo de infiltrado da lâmina própria, fibrose da mucosa, modificação da arquitetura das vilosidades ou das criptas do intestino e a depleção das células caliciformes no cólon. Foram também descritos modelos visuais e textuais para uma avaliação histológica normal, de modo auxiliar a comparação com as possíveis alterações patológicas presentes nos animais afetados. Os autores demonstraram uma correlação significativa entre o CCECAI/CIBDAI e a classificação histológica total para amostras provenientes do duodeno e cólon, mas não significativa para amostras do estômago. Houve também uma concordância entre os patologistas para a classificação histológica total mas não para a avaliação da fibrose da mucosa e da atrofia das vilosidades.

A LPE é a manifestação histopatológica mais comum da inflamação intestinal, caracterizando-se pela infiltração da mucosa por linfócitos e plasmócitos da lâmina própria que pode estender-se até à submucosa e muscular, associada a modificações na estrutura da mucosa (Day et al., 2008; Hall.E et al., 2017; Washabau et al., 2010; Wennogle, Priestnall, & Webb, 2017).

Em animais da raça Basenji surge ainda uma forma mais grave, uma enteropatia imunoproliferativa caracterizada por uma intensa infiltração linfoplasmocítica do intestino delgado, com atrofia das vilosidades, ligeira dilatação dos vasos linfáticos, gastrite linfocítica e/ou atrofia e ulceração da mucosa gástrica (Casamian-Sorrosal et al., 2010; German, Hall, et al., 2003). A infiltração eosinofílica é o segundo tipo mais frequentemente encontrado no cão, apesar de ser uma forma bastante mais rara que a LPE. Normalmente, para além do intestino delgado, existe envolvimento do estômago e/ou cólon. Os animais afetados tendem a ser mais novos e parece existir uma predisposição rásica no Doberman, no Boxer e no Pastor Alemão. Frequentemente é possível detetar úlceras na mucosa destes animais associadas a melena, a hematémese e/ou hematoquézia (Hall et al., 2017). Infiltrações granulomatosas ou por neutrófilos são raramente diagnosticadas em cães e aparecem sobretudo em raças como os Boxers e os Bulldogs Franceses. Surgem muitas vezes associadas a infeções bacterianas por *E. coli*, *Streptococcus*, *Campylobacter*, *Yersinia* e *Mycobacteria*, infeções fúngicas por *Histoplasma* ou infeções por algas como a *Prototheca spp.* Nestes casos, a cultura das biópsias da mucosa, dos linfonodos intestinais ou de outros órgãos abdominais e o diagnóstico imagiológico completo está aconselhado de forma a isolar os organismos infecciosos e detetar o envolvimento sistémico de outros órgãos. A utilização de colorações especiais como Gram, GMS, PAS e Steiner modificado ou meios de diagnóstico mais contemporâneos e sensíveis como o FISH permitem a deteção de bactérias nos tecidos fixados. É de extrema importância não administrar uma terapêutica imunossupressora nestes

animais até que os agentes infecciosos sejam eliminados (Hall et al., 2017; Mansfield et al., 2009; Simpson et al., 2006; Simpson, 2012).

Num estudo recentemente publicado no *Journal of Veterinary Internal Medicine* utilizando cães com CE acompanhada ou não de hipoalbuminémia, não foi possível encontrar diferenças estatisticamente significativas entre a proporção de infiltrados linfoplasmocíticos ou eosinofílicos da lâmina própria em animais com hipoalbuminémia ou com normoalbuminémia (Wennogle et al., 2017). Para além disso, as proporções e a gravidade dessas infiltrações não estavam correlacionadas com a concentração sérica de albumina, resultados compatíveis com estudos anteriores (Allenspach et al., 2007; Craven et al., 2004; Wennogle et al., 2017). Interessantemente, os autores verificaram que cães com hipoalbuminémia apresentavam uma proporção aumentada de infiltrados celulares de linfócitos intraepiteliais (LIE) e neutrófilos na lâmina própria. Os LIE são uma componente da primeira linha de defesa do sistema imunitário gastrointestinal e podem ter um papel tanto pró como anti-inflamatório (Haas et al., 2014). São necessários mais estudos para determinar qual o papel destas células em cães com CE. Também não foi possível esclarecer qual a etiologia subjacente para a maior prevalência de neutrófilos em animais com hipoalbuminémia, sendo que uma das hipóteses mais plausíveis seria a sua associação a uma possível translocação da flora microbiana ou de organismos patogénicos. Neste estudo, os autores verificaram também que animais com hipoalbuminémia apresentavam frequentemente alterações histopatológicas como a dilatação dos vasos linfáticos ou a presença de lesões nas criptas intestinais. A dilatação e preenchimento das criptas com muco é também uma alteração histopatológica frequente em cães com PLE, especialmente em Yorkshire Terriers e já foi descrita anteriormente por vários autores (Peterson & Willard, 2003; Simmerson et al., 2014; Willard et al., 2000).

10. Novas ferramentas de diagnóstico

A busca por marcadores biológicos que permitam avaliar alterações no índice de atividade clínica, orientar adequadamente o tratamento e prever o prognóstico tornou-se um importante foco da pesquisa nos últimos anos. Para além disso, considerando que a endoscopia é um método de diagnóstico caro, influenciado pela experiência do operador, e relativamente invasivo, a utilização de marcadores laboratoriais pode representar num futuro próximo, uma alternativa viável e segura na abordagem clínica da CE.

10.1. Proteína C-Reativa

A proteína C-reativa (CRP) é um marcador inflamatório sensível que se encontra significativamente aumentado em cães com IBD quando comparado com cães saudáveis ou após o tratamento (Jergens et al., 2003; Jergens et al., 2010; Otoni et al., 2018). No entanto, McCann, Ridyard, Else, & Simpson, (2007) e mais recentemente, Otoni et al. (2018), demonstraram que existia uma falta de correlação entre a concentração de CRP e o CIBDAI ou a classificação histopatológica em cães com CE.

Cães com IBD têm elevações séricas heterogênicas deste marcador, sugerindo que o uso de intervalo de referência populacional não é apropriado para avaliar mudanças na concentração deste marcador em pacientes individuais. Portanto, deverão ser realizadas medições seriadas da CRP, sendo que a presença de modestas alterações na sua concentração sérica poderá indicar a gravidade da doença gastrointestinal (Jergens, 2014). A detecção de aumentos não específicos deste biomarcador sérico noutras condições inflamatórias como pancreatite também limitam a sua utilidade clínica no diagnóstico e monitorização da CE em cães (Nakamura & Barry, 2001).

10.2. Calprotectina

A calprotectina (cCP) fecal é considerada um biomarcador útil para avaliação não invasiva da inflamação intestinal. Grellet et al., (2013) e Otoni et al. (2018) mostraram que este biomarcador estava significativamente aumentado em cães com IBD quando comparado com cães saudáveis e que a sua concentração diminuía significativamente com a resposta ao tratamento. Existe também uma correlação positiva entre a concentração de cCP fecal e o CIBDAI antes do tratamento e uma tendência para uma correlação positiva com a classificação histopatológica. Recentemente, Heilmann et al. (2018), comprovaram que uma concentração fecal de cCP superior ou igual a 15,2 µg/g era capaz de discriminar animais com IRE de animais com FRE/ARE com sensibilidade moderada (37%) e alta especificidade (100%). A exatidão do diagnóstico para detetar cães com IRE pode também ser melhorada quando a calprotectina fecal é usada em combinação com CRP sérica, CCECAI ou ambos. No entanto, ao contrário da concentração de cCP fecal, as concentrações séricas de cCP não diferem significativamente entre cães saudáveis e cães com IBD nem diminuem com a resposta ao tratamento. A sensibilidade e especificidade para detetar animais com IBD foram de 82,4% e 68,4% respetivamente (Heilmann et al., 2012). Equilino et al. (2015) descreveram uma concentração de cCP sérica aumentada em animais com PLE ou FRE, mas não encontram diferenças significativas na magnitude desta entre os dois grupos. Tendo em conta estes resultados, a medição da cCP sérica não é considerada um marcador ideal para o diagnóstico dos diferentes tipos de CE.

10.3. S100A12

S100A12 é uma proteína com ligação ao cálcio expressa e secretada por neutrófilos ativados e, em menor grau, por macrófagos e monócitos. Após ser libertada para o espaço extracelular, quer por lesão celular ou por ativação dos fagócitos, vai ligar-se a RAGE podendo levar a uma amplificação e perpetuação da resposta inflamatória (Hanifeh et al., 2015; Hanifeh et al., 2018; Heilmann, 2014; Heilmann et al., 2015).

Heilmann et al. (2014) comprovou que, assim como ocorre em pessoas com IBD, as concentrações de S100A12 encontravam-se aumentadas nas fezes e soro de cães com CE. Para além disso, este aumento estava correlacionado com a gravidade dos sinais clínicos, lesões endoscópicas no duodeno, inflamação do cólon e um prognóstico negativo. Mais recentemente, foram comparadas as concentrações fecais de S100A12 em cães com diferentes tipos de CE. Cães com IRE apresentavam concentrações superiores de S100A12 nas fezes quando comparados com cães com FRE ou ARE. A medição da concentração de S100A12 fecal no momento do diagnóstico permitiu também discriminar entre cães com IRE que eram refratários ao tratamento daqueles com, pelo menos, uma resposta parcial, com uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 76%. Estes resultados preliminares sugerem que o teste de S100A12 fecal pode ser útil para prever a falta de resposta ao tratamento em cães afetados com CE (Heilmann et al., 2016).

10.4. Anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos

Os anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos (*Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies* - ANCA) são um grupo formado principalmente por IgG contra antígenos no citoplasma de granulócitos, neutrófilos e monócitos. Conforme a localização dos complexos antígeno-anticorpo após a incubação podem ser classificados como perinucleares (Anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos perinucleares pANCA) ou citoplasmáticos (cANCA) quando visualizados por imunofluorescência indireta (Allenspach et al., 2004; Florey et al., 2017; Luckschander et al., 2006; Mancho, Sainz, García-Sancho, Villaescusa, & Rodríguez-Franco, 2011; Otoni et al., 2018).

Karin Allenspach et al. (2004) procuraram avaliar a utilização dos pANCA como marcador de diagnóstico de IBD em cães. Neste estudo, a sensibilidade para pANCA foi apenas de 51% e a especificidade variou entre 83% a 95%. Assim, apesar da especificidade relativamente alta, a sensibilidade encontrada foi demasiado baixa para considerar este marcador como viável. Posteriormente, um estudo complementar por Luckschander et al. (2006) avaliou a correlação entre os pANCA e resposta do tratamento em animais FRE ou IRE. Um teste pANCA positivo antes do tratamento estava altamente associado a uma boa resposta à dieta de eliminação exclusiva, o que poderá ser útil para orientar a terapêutica.

A análise de ANCAs em medicina veterinária envolve normalmente o uso de técnicas laboratoriais relativamente demoradas, com resultados inconsistentes devido à variabilidade no isolamento e purificação dos neutrófilos e à variação interobservador na interpretação de resultados da imunofluorescência. De forma a contornar este problema, Florey et al. (2017) decidiram testar um ensaio comercialmente disponível para o uso em medicina humana de forma a avaliar a presença de ANCAs no soro canino. A sensibilidade em cães com FRE foi de 61% e a especificidade foi de 100%. Foi também identificada uma associação significativa entre o resultado positivo para pANCAs ou cANCAs e o diagnóstico de FRE.

11.1 Tratamento das enteropatias crônicas com níveis de albumina normal

O tratamento da CE deverá ter sempre como principal objetivo limitar a inflamação e disbiose intestinal e procurar corrigir possíveis carências nutricionais como a deficiência em cobalamina e/ou folato (Forman, 2016). O tipo de abordagem terapêutica a adotar deverá ser ajustada em função da gravidade e cronicidade do quadro clínico. Sinais como diarreia crônica severa e com elevada frequência, perda de peso excessiva, apatia ou hiporexia, presença de hipoalbuminemia e/ou hipocobalaminemia marcadas, evidências ecográficas de doença intestinal infiltrativa ou linfadenopatia mesentérica sugerem uma forte indicação para a obtenção de biópsias intestinais e caracterização histopatológica de modo a excluir outras causas como neoplasia intestinal ou linfangiectasia e otimizar assim a terapêutica (Hall et al., 2017; Kent, 2017; Simpson, 2012; Simpson & Jergens, 2011). Por outro lado, pacientes com diarreia crônica, mas que mantém a sua atitude e apetite normais e/ou com uma perda de peso pouco marcada ou indefinida, vários autores aconselham, como uma primeira abordagem, a instituição de um tratamento sequencial empírico com a administração de dieta adequada de forma a diagnosticar os casos FRE. No caso da resposta a esta primeira etapa do tratamento for negativa ou apenas parcial com uma incompleta resolução dos sinais clínicos, deverá ser instituído um tratamento empírico com antibióticos de forma a diagnosticar os casos ARE. Se a resposta a este novo tratamento também for parcial ou inexistente, o animal deverá ser então encaminhado para endoscopia/laparotomia exploratória de forma a obter amostras para histopatologia e iniciar uma terapêutica com imunossuppressores (Dandrieux, 2016; Simpson & Jergens, 2011).

11.1.1. Antiparasitários

Os parasitas gastrointestinais são uma causa comum de distúrbios gastrointestinais crônicos em cães. Independente dos resultados da parasitologia fecal, um tratamento com drogas anti-helmínticas de amplo espectro como, por exemplo, o fenbendazol a 50mg/kg PO SID, durante

três dias é sempre recomendado, especialmente devido ao carácter intermitente da eliminação de formas parasitárias fecais de alguns parasitas, especialmente *Giardia* sp. (German, Hall, et al., 2003; Kent, 2017; Simpson & Jergens, 2011; Steiner & Allenspach, 2008).

11.1.2. Dieta

A dieta é considerada um dos principais moduladores do microbioma intestinal, apesar de até ao momento, ainda não ter sido possível esclarecer quais os componentes desta que são capazes de induzir alterações funcionais significativas responsáveis pelo desencadeamento de um processo inflamatório gastrointestinal crónico (Suchodolski, 2016).

Existem três tipos de dietas terapêuticas comerciais disponíveis para o diagnóstico e abordagem terapêutica das CE: dietas gastrointestinais que facilitam a absorção de nutrientes, altamente digeríveis, com restrição de gordura ou pouca quantidade de fibra; dietas que favorecem a modificação antigénica com proteínas hidrolisadas ou dietas de eliminação constituídas por uma fonte de proteína que o animal nunca tenha contactado e uma fonte de hidratos de carbono sem glúten. Para além destas, também poderão ser utilizadas dietas caseiras equilibradas e completas, com um carácter hipoalergénico ou então com uma fonte de proteína nova para o animal, sempre formuladas por um veterinário nutricionista certificado. Qualquer uma destas dietas deve ser dada de forma exclusiva, não devendo ser fornecido ao animal comidas adicionais, suplementos, biscoitos, snacks, prémios, medicações com sabor ou pasta de dentes durante este período. Para além disso, se diversos animais partilharem o mesmo espaço, é recomendado que ocorra uma alimentação separada individual, ou se tal não for possível, todos os animais deverão ser submetidos à mesma dieta terapêutica (Hall et al., 2017; Jergens & Simpson, 2012; Mandigers et al., 2010; Marks et al., 2002; Walker et al., 2013; Yeo, 2017).

É extremamente importante alertar os donos para a necessidade de fornecer uma dieta rigorosa e restrita, uma vez que a falta de *compliance* e rigor poderá estar na origem de um falso diagnóstico com a administração terapêuticas mais agressivas e desnecessárias durante toda a vida do animal (Wray, 2018).

Apesar de um período mínimo de 6 semanas ser recomendado por vários autores, existem vários estudos que provam que os animais com FRE respondem num espaço de tempo mais curto. Num estudo realizado por Allenspach et al. (2007), os animais responderam a uma dieta de eliminação em 10 a 14 dias. Resultados semelhantes foram também encontrados em estudos por (Allenspach et al., 2016; Gaschen & Merchant, 2011; Luckschander et al., 2006; Schreiner et al., 2008)

Alimentar os animais com proteína de alto valor biológico, altamente digestível é essencial para reparar as funções gastrointestinais como o turnover e o crescimento dos enterócitos,

reparar a imunidade da mucosa intestinal e promover o aumento da massa muscular. A administração de uma proteína de fraca qualidade pode levar a uma má digestão com um impacto direto na homeostasia do trato gastrointestinal levando a alterações na motilidade e ao aparecimento de disbiose intestinal (Guilford, 1996; Guilford & Matz, 2003; Hall et al., 2017).

Ainda que já tenha sido reportados vários casos de animais com FRE que respondem a uma dieta comercial gastrointestinal e estas serem normalmente uma opção mais barata que as dietas hidrolisadas, um estudo por Mandigers et al. (2010) demonstrou que animais com FRE, quando alimentados com uma dieta gastrointestinal apresentavam uma maior probabilidade de desenvolverem recaídas nos controlos subsequentes em comparação com os animais alimentados com uma dieta com proteínas hidrolisadas.

A recomendação de dietas hipoalergénicas como terapêutica única ou adjuvante à terapêutica farmacológica das CE tem vindo a aumentar nos últimos anos. O objetivo principal de submeter as proteínas da dieta a um processo de hidrólise é destruir a sua estrutura, transformando-as em compostos de peso molecular inferior, de forma a prevenir o seu reconhecimento antigénico e desencadeamento de uma resposta imunitária direcionada para a proteína intacta. No entanto, atualmente ainda é desconhecido qual o tipo de disfunção imunitária presente num paciente com CE (Kathrani, 2017). Para além disso, existem estudos que provam que até 20% dos animais que foram sensibilizados previamente para a proteína intacta poderão ainda responder à proteína hidrolisada (Jackson, Jackson, Coblenz, & Hammerberg, 2003). Isto pode ocorrer pois nem sempre é possível estimar o grau de hidrólise existente em determinadas dietas que podem ainda apresentar moléculas com um tamanho superior a 10 quilo daltons (kDa) capazes de desencadear uma resposta imunitária (Cave & Guildford, 2004). Assim, acredita-se que existem outros atributos deste tipo de dietas que poderão ajudar a atingir a resolução dos sinais clínicos como, por exemplo, a sua elevada digestibilidade, absorção mais rápida dos aminoácidos, níveis de gordura mais baixos, conteúdo em fibras diferente e a presença de ácidos gordos polinsaturados ómega 3 com conhecidas propriedades imunomoduladoras (Cave et al., 2002).

Dietas comerciais com uma nova fonte de proteína poderão ser, por exemplo, constituídas por carnes de caça, coelho, pato, canguru, veado, cabra, avestruz ou outros tipos de proteínas que os animais ainda não tenham contactado previamente. Apesar de estas dietas serem normalmente mais palatáveis e apresentarem, por vezes, um custo inferior que as dietas hidrolisadas, selecionar o que pode ser considerada uma fonte proteica completamente nova para o animal poderá ser uma tarefa difícil, principalmente se o veterinário não tiver acesso a uma história completa de todas as dietas e os seus ingredientes constituintes que foram fornecidas ao animal desde o seu nascimento. Outra desvantagem deste tipo de dietas, que têm vindo a ser observada, de forma muito esporádica, centra-se no facto de sistema imunitário do animal eventualmente poder desenvolver uma sensibilidade aos antigénios da

nova dieta, resultando numa recaída no futuro. Para além disso, estas dietas apresentam, por vezes, níveis superiores de gordura o que pode levar a uma exacerbação da diarreia ou serem contraindicadas em animais com linfangiectasia ou pancreatite concomitante (Hall et al., 2017; Kathrani, 2017; Marchesi, 2017).

Não existem estudos prospetivos publicados que comparem diretamente a resposta ao tratamento utilizando dietas com proteínas hidrolisadas ou com uma fonte nova de proteína. No entanto, num estudo retrospectivo realizado por Allenspach et al. (2016) em que foram incluídos 171 cães com FRE, 55% dos animais foram alimentados com uma dieta com uma fonte nova de proteína, 44% com uma dieta com proteínas hidrolisadas. Os autores não conseguiram encontrar diferenças significativas na resposta ao tratamento entre os animais alimentados com qualquer uma das dietas.

Uma das principais vantagens da utilização de uma dieta caseira reside num maior controlo sobre os ingredientes, especialmente importante na formulação de dietas com fonte nova de proteína. Testes ELISA e PCR realizados em dietas comerciais de eliminação evidenciaram que estas podem ainda apresentar na sua constituição fontes proteicas para além das descritas no rótulo ou possuir aditivos adicionados responsáveis por reações idiossincráticas à comida (Gaschen & Merchant, 2011). Por outro lado, apesar de este tipo de dietas ser normalmente mais digerível e palatável para os animais, muitas vezes apresentam carências nutricionais importantes como deficiência em calorias, cálcio, vitaminas, micronutrientes e uma quantidade excessiva de proteína. Para evitar este tipo de situações, a sua formulação deve ser sempre executada por um veterinário nutricionista qualificado. O arroz branco é uma opção frequentemente recomendada como fonte de hidratos de carbono, uma vez que é livre de glúten, altamente digestível e reconhecido como sendo não antigénico. Outras opções sem glúten incluem a tapioca ou a batata, mas nenhuma destas apresenta a elevada digestibilidade do arroz cozido (Hall et al., 2017).

Se as manifestações gastrointestinais persistirem, uma nova dieta comercial com outra fonte de proteínas e hidratos de carbono pode ser administrada ou como alternativa, uma dieta caseira caso apenas tenham sido utilizadas fórmulas comerciais (Cave et al., 2002; Gaschen & Merchant, 2011; Hall et al., 2017).

A falta de resultados imediatos e a necessidade de realizar várias tentativas para descartar possíveis reações à dieta pode ser considerada uma tarefa frustrante para os donos, sendo que o clínico tem um papel importante neste aspeto, devendo sempre procurar elucidá-los sobre a importância de obter um diagnóstico correto antes de iniciar uma terapêutica farmacológica inadequada.

11.1.3. Antibióticos

Nos animais em que não for possível obter qualquer resposta à dieta ou apenas ocorreu uma resposta parcial, o próximo passo será a administração empírica de antibióticos. Atualmente, do ponto de vista de saúde pública, a prescrição de antibióticos na clínica, quer em Medicina como em Medicina Veterinária deve ser sempre realizada de forma prudente e justificada. O aparecimento de resistências é uma crescente preocupação, mas, por enquanto, o uso empírico deste tipo de terapêutica ainda é aconselhado por grande parte dos autores. A escolha do antibiótico mais indicado deve ter em conta a biodisponibilidade e o perfil de segurança do fármaco, o custo do tratamento a longo prazo e possível desenvolvimento de resistências (Hall, 2011).

Os fármacos normalmente recomendados são a oxitetraciclina (10-20mg/kg PO TID), tilosina (20mg/kg PO BID ou TID) ou o metronidazol (10-15mg/kg PO BID ou TID) (Hall et al., 2017). Um estudo realizado Westermarck, Frias, & Skrzypczak (2005) utilizou sete Beagles com diarreia crônica com pelo menos 1 mês de duração e que já tinham sido submetidos a um tratamento com antibióticos, prednisona e dieta sem resultados. Foi então administrada tilosina durante 10 dias e apesar da consistência das fezes se ter tornado significativamente mais firme, estas ainda não eram normais. Quando o tratamento foi descontinuado, diarreia reapareceu num período máximo de 3 semanas. Com a modificação exclusiva da dieta, a consistência fecal também apresentou melhorias significativas, mas alguns animais continuavam a demonstrar recaídas e apresentam frequentemente fezes moles. Como a consistência não era satisfatória apenas com dieta, a tilosina foi adicionada novamente à terapêutica por 10 dias. A consistência fecal tornou-se então normal e permaneceu assim durante todo o período de acompanhamento de 3 meses do estudo. Os resultados deste estudo sugerem assim que a alteração dietética e o tratamento com a tilosina têm um efeito sinérgico nos animais com ARE.

Num estudo clínico controlado, prospetivo, randomizado e duplo-cego utilizando 27 cães sujeitos a um tratamento com tilosina durante sete dias na dose 25 mg/kg PO SID, a proporção de animais com uma consistência fecal normal no final do tratamento foi de 85% e 29% com o placebo. Este estudo demonstrou que a administração de tilosina, era suficiente para interromper a diarreia em apenas 3 dias após o início do tratamento e os animais não manifestavam mais sinais de ARE durante o tratamento com este antibiótico. Em 63% dos cães, o tratamento com tilosina foi descontinuado pelo menos duas vezes e a diarreia ocorreu em 55% dos animais nos 20 dias após a interrupção. Em todos os cães, a diarreia desapareceu nos dois dias após o início do tratamento com tilosina (Kilpinen et al., 2011).

Em 2014, foi realizado um estudo clínico prospetivo, simples, cego, paralelo com o objetivo de determinar a dose mais eficaz de tilosina em que foram utilizados 15 cães com história anterior de diarreia responsiva à tilosina na dose 25 mg/kg PO SID durante 7 dias. 88% dos

animais sofreram uma recaída num período médio de 9 dias (intervalo 1-33 dias) após a descontinuação do tratamento com tilosina. Estes animais foram divididos então em 3 grupos conforme as três doses de tilosina administrada (5,15 ou 25 mg/kg PO SID). Os autores deste estudo comprovaram que a diarreia desapareceu num período médio de 2 a 3 dias, após a reintrodução da tilosina nas três doses. Estes resultados sugerem que a estratégia mais indicada será começar um tratamento empírico com uma dose mais alta e, em caso de recaída após a cessação da terapêutica, a dose poderá ser diminuída para 5 mg/kg SID na altura da reintrodução deste antibiótico (Kilpinen, Spillmann, & Westermarck, 2014).

Mais recentemente, Manchester, Craig, Lidbury, Steiner, & Suchodolski (2017) realizaram um estudo clínico em que foi administrada tilosina 20 mg/kg BID PO durante 7 dias a 10 cães saudáveis de forma a avaliar os efeitos deste antibiótico no microbioma fecal de animais saudáveis. Os autores observaram que nenhum dos animais, quer do grupo de controlo quer do grupo que recebeu tratamento antibiótico desenvolveu diarreia. Enquanto que no grupo de animais de controlo não foram observadas mudanças significativas no seu DI, os animais submetidos ao tratamento antibiótico apresentavam um DI aumentado significativamente no dia 7 comparando com a medição no dia 0. A abundância de *Faecalibacterium* estava significativamente diminuída após o tratamento com tilosina. Com este estudo, os autores concluíram que a tilosina têm um efeito profundo no microbioma fecal, sendo que estas alterações na composição do microbioma podem persistir em alguns animais durante, pelo menos, 2 meses.

Se o paciente aparenta responder à terapêutica com a dieta e o antibiótico adequados, então o aconselhado será continuar com o tratamento durante, pelo menos, mais 2-4 semanas de forma a confirmar o diagnóstico (Willard, 2016). Se a situação clínica permanecer inalterada e o animal continuar em remissão, poderá ser feita uma tentativa de descontinuação da terapêutica, diminuindo gradualmente a dose do antibiótico a 25% a cada intervalo de 2 semanas (Jergens & Simpson, 2012). Uma recaída apenas alguns dias após a paragem, poderá significar que o animal necessita de ser mantido com uma dose mínima eficaz ao longo da sua vida. Se o período de recaída só ocorrer num período superior a 2 meses, então a decisão mais sensata será apenas medicar o animal quando este se encontra sintomático (Willard, 2016).

Especula-se que o efeito benéfico dos antibióticos poderá ser explicado pelo seu efeito imunomodulador em conjunto com uma alteração da composição do microbioma intestinal e das relações filogenéticas existentes. Por exemplo, está provado que o metronidazol pode levar a um aumento da população de *Bifidobacterium* e redução do stress oxidativo das proteínas no colón (Vasquez, Suau, Magne, Pochart, & Pélissier, 2009). Por outro lado, a administração de tilosina pode resultar num aumento dos níveis fecais de *Enterococcus spp.* Estas bactérias ácido lácticas apresentam importantes propriedades anti-inflamatórias e são capazes de normalizar a consistência fecal, podendo assim algumas estirpes desta família

funcionar como probióticos e uma estratégia terapêutica alternativa nos casos que requerem uma medicação antibiótica a longo prazo (Kilpinen, Rantala, Spillmann, Björkroth, & Westermarck, 2015).

No caso de colite granulomatosa, caracterizada pela invasão da mucosa do cólon por *Escherichia coli*, a administração de enrofloxacin 10-15 mg/kg SID PO está recomendada. Os animais devem ser reavaliados após 2 semanas e a duração total do tratamento nos animais que respondem é normalmente de 8 semanas (Mansfield et al., 2009; Simpson et al., 2006). Algumas resistências a este antibiótico foram descritas e, por esta razão em particular, uma boa prática será recolher amostras da mucosa do cólon para cultura de forma a determinar a susceptibilidade aos antibióticos e orientar corretamente o tratamento. O prognóstico para estes animais pode ser bastante reservado se a causa subjacente não for identificada atempadamente pelo clínico (Craven et al., 2010; Mansfield et al., 2009).

11.1.4. Imunossupressores

Os agentes imunossupressores mais frequentemente utilizados como primeira linha de tratamento são corticosteroides orais como a prednisona e a prednisolona devido ao seu custo baixo e rápida eficácia. A dose inicial recomendada é de 1–2 mg/kg PO BID durante 2 a 4 semanas. Idealmente os pacientes devem reduzir de forma gradual a corticoterapia assim que os sinais clínicos estiverem resolvidos. É importante que estes pacientes sejam reavaliados a cada 2–3 semanas, de forma a monitorizar uma possível supressão da médula óssea e o aparecimento de um hiperadrenocorticismio iatrogénico. Efeitos secundários adversos como a poliúria, polidipsia, polifagia, atrofia muscular, alterações do pêlo ou comportamento anormal são frequentemente descritos, podendo ser motivo de frustração para os donos e razão para alterar a terapêutica imunossupressora. Para além disso, a proteinúria e o aparecimento de infeções do trato urinário estão também associadas à corticoterapia e, por isso, devem ser realizadas urianálises e culturas de urina frequentes (Forman, 2016; Hall et al., 2017; Jergens & Simpson, 2012; Kent, 2017; Simpson & Jergens, 2011).

É altamente provável que muitos pacientes necessitem de manter uma dose mínima eficaz a longo termo e esta é variável entre cada paciente. Se a descontinuação de doses elevadas de corticosteroides não for possível, então a situação clínica do animal em questão deverá ser reavaliada e deverá ser considerada uma terapêutica concomitante com outros agentes imunossupressores não esteroides de forma a controlar a doença e minimizar o aparecimento de efeitos secundários que ponham em risco a vida do paciente (Hall et al., 2017; Jergens & Simpson, 2012; Poulin, 2016).

A budesonida é outro glucocorticoide com uma absorção sistémica mínima e efeito mineralocorticoide fraco que poderá ser utilizada como alternativa, principalmente em pacientes que apresentem efeitos secundários severos com a prednisona ou a prednisolona.

A dose recomendada ainda não está definida e varia entre autores, mas muitas vezes é utilizada na prática clínica a dose de 2 mg PO SID para cães com um peso inferior a 18 kg e de 3 mg PO SID para cães com um peso superior a 18 kg (Stafford, 2017). No entanto, este fármaco não evita o risco do aparecimento de hiperadrenocorticismismo iatrogénico ou atrofia das adrenais. Num estudo clínico controlado, prospetivo, randomizado e duplo-cego publicado procurou comparar o uso da budesonida com a prednisona em 40 cães com IBD. Para este efeito, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos e foi administrada budesonida nas doses 1 mg PO SID a animais com 3 a 7 kg, 2 mg PO SID a animais com 7,1 a 15 kg, 3 mg PO SID a animais com 15,1 a 30 kg e 5 mg PO SID para animais com mais de 30 kg e prednisona na dose 1 mg/kg PO SID durante 3 semanas e depois 0,5 mg/kg PO SID durante mais 3 semanas. Os autores não conseguiram encontrar diferenças estatisticamente significativas entre a frequência dos efeitos secundários observados nos diferentes grupos. O sucesso terapêutico também foi idêntico para ambos os glucocorticoides, com taxas de remissão semelhantes ao longo de um período de 6 semanas (Dye, Diehl, Wheeler, & Westfall, 2013).

Pietra et al. (2013) procuraram avaliar a eficácia terapêutica da budesonida em 11 cães com IBD moderada a severa. De acordo com os donos, 3 dos 11 cães (27%) não mostraram uma melhoria clínica significativa após 30 dias de tratamento, tendo mantido a diarreia crónica. Nos restantes animais, foi reportado um desaparecimento da diarreia crónica com uma melhoria do comportamento geral, aumento do apetite e nível de alerta dos animais. Num estudo mais recente por Rychlik, Kołodziejska-Sawerska, Nowicki, & Szweda (2016), a budesonida apresentou piores resultados com uma baixa eficácia clínica. Os 14 animais incluídos neste estudo foram divididos em dois grupos com 7 elementos. Ao primeiro grupo foi administrada budesonida oral na dose 2 mg/animal/dia durante 30 dias e ao segundo grupo foi administrada um placebo durante o mesmo período. 57% dos cães incluídos neste estudo não melhoraram a sua condição clínica e os restantes 43% demonstraram apenas uma ligeira diminuição do CIBDAI. Estes resultados indicam que a budesonida poderá não ser o glucocorticoide mais adequado para os casos IRE.

Num estudo publicado por Allenspach et al. (2006) foram recolhidas biópsias duodenais provenientes de 48 cães com CE e foi avaliada a expressão da glicoproteína-P nos linfócitos da lâmina própria. Esta glicoproteína é uma proteína transmembranar com uma reconhecida expressão aumentada em pessoas com IBD refratária aos glucocorticoides. No estudo em questão, foi possível encontrar uma associação estatisticamente significativa entre uma resposta positiva ao tratamento com glucocorticoides e uma expressão desta glicoproteína mais baixa antes do tratamento. Estes resultados indicam que avaliação da expressão na mucosa desta glicoproteína poderá ser uma ferramenta útil para prever a resposta ao tratamento.

Se existir uma fraca resposta aos glucocorticoides durante as primeiras 3–4 semanas ou se os efeitos secundários forem demasiado graves, muitos autores recomendam o uso da ciclosporina oral. O seu principal mecanismo de ação é impedir a ativação das células T, através da ligação ao recetor intracelular da proteína ciclofilina-1. O complexo formado é responsável por inibir a calcineurina, prevenindo assim a desfosforilação e ativação do fator de transcrição nuclear de células T ativadas (*Nuclear factor of activated T-cells* - NF-AT). Este fator tem como principal função ajudar a regular a produção de várias citocinas pró-inflamatórias como a IL-2, IL-4, IFN- γ e o TNF- α (Guaguere, Steffan, & Olivry, 2004). A IL-2 em particular apresenta um papel fundamental na imunidade celular, levando à ativação e proliferação das células T. Para além deste efeito, existem evidências que a via de sinalização do NF-AT está também envolvida na regulação da homeostase das células envolvidas na imunidade inata (Fric et al., 2012). A ciclosporina desempenha também um papel importante na diminuição da resposta inflamatória, podendo afetar a atividade das células B, células apresentadoras de antígenos, queratinócitos, células endoteliais, mastócitos, basófilos e eosinófilos (Forsythe & Paterson, 2014). Allenspach et al. (2006) realizaram um estudo piloto de forma a avaliar a farmacocinética e a eficácia clínica da ciclosporina em cães com IBD grave refratária. Neste estudo, foram incluídos um total de 14 cães no estudo que apenas tinham demonstrado anteriormente uma resposta clínica mínima à administração oral de prednisolona 2 mg/kg PO SID durante um período mínimo de 6 semanas. Após a endoscopia inicial do estudo, todos os animais receberam um tratamento com ciclosporina oral na dose 5 mg/kg PO SID durante 10 semanas e o seu CIBDAI foi avaliado a cada 2 semanas durante este período. No final do estudo, os autores conseguiram observar uma redução significativa do CIBDAI médio, sendo que 8 cães demonstraram uma resposta completa após 4 semanas de tratamento com a redução do CIBDAI para valores entre 0 e 2. No entanto, dois animais, não mostraram qualquer resposta ao tratamento com a ciclosporina e acabaram por ser eutanasiados durante o estudo. Outro animal que inicialmente respondeu bem à ciclosporina durante 14 semanas sofreu uma forte recaída e também acabou por ser eutanasiado. Durante as primeiras 2 semanas deste estudo foram também observados efeitos secundários atribuídos à ciclosporina como vômito e anorexia parcial em 4 cães, ulceração gengival em um animal e alopecia seguida de hipertricose noutra animal. Apesar do preço ser geralmente mais elevado, a ciclosporina constituiu assim uma opção válida para animais com IBD refratária aos corticosteroides.

Outro imunossupressor mais económico que poderá ser utilizado como uma alternativa aos corticosteroides em casos de IBD grave ou refratária é a azatioprina. É um fármaco com um efeito citotóxico potente que é metabolizado a 6-mercaptopurina, interferindo com o reconhecimento antigénico pelos linfócitos (Jergens, 2002). Tendo em conta que este fármaco demora cerca de 2–3 semanas para atingir a sua eficácia total, a paragem total dos corticosteroides só deverá ser realizada após 3 semanas do início da terapia com este novo

imunossupressor. A dose oral inicial recomendada é 2 mg/kg diariamente durante 3 semanas, e depois poderá ser reduzida para 1–2 mg/kg a cada 48h (Gaschen, 2011; Hall et al., 2017; Westermarck, 2016). Efeitos secundários frequentes associados à administração prolongada são, por exemplo, mielossupressão, hepatotoxicidade e pancreatite e portanto, a condição clínica dos animais deve ser sempre monitorizada cuidadosamente com análises hematológicas e bioquímicas a cada 4–6 semanas (Plumb & Plumb, 2011).

O clorambucilo é um agente anticancerígeno com propriedades imunossupressoras eficazes, bem tolerado e menos dispendioso que outros fármacos como a ciclosporina. Apresenta também um período de início de ação prolongado e, portanto, qualquer redução da dose dos glucocorticoides deverá ser realizada apenas 3 a 4 semanas após o início do clorambucilo (Dandrieux, Noble, Scase, Cripps, & German, 2013). É um dos imunossupressores de segunda linha mais utilizados e a dose recomendada tipicamente é de 2 a 6 mg/m² SID. Está também aconselhada a realização seriada de hemogramas de forma a monitorar o aparecimento de uma possível mielossupressão secundária que se pode manifestar com anemia, leucopenia, trombocitopenia e toxicidade gastrointestinal (Plumb & Plumb, 2011).

Outra opção imunossupressora com uma adesão crescente em Medicina Veterinária é o micofenolato de mofetil. Este fármaco é responsável pela inibição da síntese de purinas necessária para a proliferação de linfócitos B e T e também diminuí a produção de óxido nítrico, o que lhe confere também num efeito anti-inflamatório. Como o seu uso ainda não está suficientemente divulgado, ainda não foram estabelecidos quais os efeitos secundários mais comuns em cães. No entanto, é aconselhado que os animais submetidos a esta terapêutica alternativa sejam também cuidadosamente monitorizados com análises hematológicas e bioquímicas frequentes uma vez que o aparecimento de efeitos secundários gastrointestinais graves, mielossupressão, reações agudas hepáticas ou renais já foram reportados em pessoas. A dose inicial recomendada em cães é 10 mg/kg BID e as principais vantagens do uso deste imunossupressor centram-se na sua relação custo-benefício, uma eficácia mais rápida que outros imunossupressores e a disponibilidade para administrar por via endovenosa naqueles pacientes que não tolerem medicação por via oral (Stafford, 2017).

Muitas das medicações utilizadas apresentam efeitos secundários gastrointestinais como falta de apetite, borborigmos, vômito, diarreia e úlceras GI e portanto, deverá ser considerada sempre uma medicação adicional de suporte como antiácidos e/ou modificadores da motilidade intestinal (Hall et al., 2017; Tams, 2003).

11.1.5. Probióticos

Os probióticos são formulações de organismos vivos que conferem efeitos benéficos ao hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas (FAO/WHO, 2002). Mecanismos propostos através dos quais estes melhoram a saúde do hospedeiro incluem

redução da permeabilidade intestinal, aumento a secreção de mucina pelas células caliciformes, aumento da secreção de defensinas que impedem a colonização de agentes patogênicos, produção de AGCC, estimulação da secreção de IgA promovendo a tolerância a organismos comensais e mantendo a proteção contra agentes patogênicos (Gallo, Passaro, Gasbarrini, Landolfi, & Montalto, 2016). Podem também funcionar como inibidores de crescimento para outras bactérias, através da competição por nutrientes específicos e locais de adesão da mucosa e estimulação da resposta imune intestinal (Suchodolski, 2016).

Os organismos probióticos mais comumente administrados incluem *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Adicionalmente também são utilizadas bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Streptococcus* assim como a levedura *Saccharomyces boulardii*. Para que estes permanecem viáveis, é necessário que resistam ao ambiente ácido do estômago e aos ácidos biliares, de forma a conseguirem colonizar os intestinos (Gallo et al., 2016; Sauter et al., 2006; Schmitz, Werling, & Allenspach, 2015).

Num estudo realizado com cães com FRE tratados com liofilizado de *Lactobacillus* por 21 dias em conjunto com a mudança de dieta, ocorreu um aumento de lactobacilos e diminuição de enterobactérias nas fezes acompanhada de uma melhoria dos sinais clínicos (Sauter et al., 2006). O *Enterococcus faecium* SF68 é uma estirpe produtora de ácido láctico que foi associado com um aumento dos níveis séricos de IgA. Num ensaio clínico recente, a utilização deste probiótico em conjunto com o metronidazol, permitiu uma melhoria da consistência fecal em comparação aos cães tratados exclusivamente com o antibiótico (Fenimore, Martin, & Lappin, 2017).

Rossi et al. (2014) decidiram comparar as respostas ao tratamento com uma terapia combinada com a prednisona e o metronidazol ou com estirpes probióticas VSL#3 em 20 cães com IBD idiopática. Para este efeito, foram constituídos dois grupos sendo que 10 animais receberam 112-225 bilhões de bactérias por 10 kg enquanto os restantes animais receberam a terapia medicamentosa combinada com metronidazol 20 mg/kg PO BID e prednisona 1 mg/kg PO SID durante 60 dias. O estudo relatou uma diminuição da gravidade histológica, do CIBDAI e da infiltração com CD3+ na mucosa em ambos os grupos de tratamento. Foi observado um aumento do TGF- β nos dois grupos, mas a magnitude deste aumento foi maior nos cães tratados D-VSL#3. Também foi verificado um aumento de FoxP3 após o tratamento com o probiótico, mas tal não ocorreu com a terapêutica medicamentosa combinada. A análise microbiológica mostrou que inicialmente todos os cães apresentaram uma diminuição estatisticamente significativa da abundância de *Faecalibacterium spp.* e *Turicibacter spp.* quando comparados a 10 cães saudáveis. A concentração de *Faecalibacterium spp.* aumentou significativamente nos cães em que foi administrado o probiótico e mostrou uma tendência para aumentar nos restantes animais, o que poderia ser um indicador da normalização da disbiose intestinal. O estudo sugeriu que o aumento dos marcadores

reguladores de células T como o TGF- β e o FoxP3 simultaneamente com a normalização da disbiose, apontam para um efeito protetor do probiótico em relação à terapia combinada.

Um ensaio clínico mais recente em cães com CE também apresentou resultados promissores. A administração do probiótico da estirpe de *Saccharomyces boulardii* permitiu uma melhoria significativa do CCECAI, da frequência de defecação e consistência das fezes em comparação com o grupo de controle (D'Angelo et al., 2018).

11.1.6. Prébióticos

Embora ainda existam poucos estudos, os benefícios potenciais de suplementação prébiótica representam um dos pilares do tratamento dirigido à modificação do microbioma intestinal (Gallo et al., 2016). Os prebióticos são hidratos de carbono não digeríveis que promovem seletivamente o crescimento ou a atividade de microrganismos comensais e incluem dissacarídeos, oligo ou polissacarídeos como os fruto-oligossacarídeos, mananoligossacarídeos, xilooligossacarídeos, polidextrose, galacto oligossacarídeos ou prebióticos de cadeia longa como a inulina (Gibson et al. 2010; Roberfroid et al. 2010). Estes vão ser seletivamente fermentados pelas bactérias do cólon, dando origem a produtos finais como os AGCC que possuem importantes propriedades anti-inflamatórias, fornecem nutrientes essenciais e protegem o epitélio intestinal, aumentando a camada de muco, alongando o microvilosidades, aumentando o número de células epiteliais e prevenindo a aderência de agentes patogênicos (De Godoy, Kerr & Fahey, 2013; Schmitz & Suchodolski, 2016; Barko et al., 2018).

Um meta-análise de 15 estudos publicados contendo 65 diferentes meios de tratamento de 418 observações de diferentes raças de cães procurou mostrar quais os efeitos dos prebióticos sobre a digestibilidade, produção de AGCC, populações bacterianas fecais e imunidade intestinal. Foi observado que a administração de prebióticos não afetava a ingestão de nutrientes nem alterava a digestibilidade da matéria seca e da gordura. No entanto, a digestibilidade da proteína bruta tinha uma tendência a diminuir de forma quadrática com doses crescentes de prebióticos. A concentração de AGCC total presente nas fezes assim como a concentração dos lactobacilos tendeu a aumentar linearmente com o aumento da dosagem de prebióticos enquanto que o número de bifidobactérias benéficas aumentou de forma quadrática. Os níveis de *Clostridium perfringens* e *Escherichia coli* patogênicos não foram afetados pela administração de prebióticos. A composição dietética não influenciou a resposta dos prebióticos nos números de lactobacilos e bifidobactérias neste estudo, sugerindo que a terapêutica com prebióticos pode fornecer efeitos benéficos independentes desta (Schmitz & Suchodolski, 2016).

A dose de prebióticos oferecidos a cada paciente é uma questão em debate em medicina humana e veterinária. Estudos por Barry et al. (2009) e Willard, Simpson, Cohen, & Clancy

(2000) confirmaram o efeito mínimo que os prebióticos apresentam no microbioma intestinal quando administrados em doses baixas (1% de matéria seca). No entanto, quando o nível de inclusão alimentar de fibra é demasiado alto, a digestibilidade dos macronutrientes pode ser gravemente afetada (Godoy, Kerr, Fahey, & Jr., 2013). As dietas comerciais secas apresentam normalmente uma quantidade de fibra insolúvel entre 1-5% em MS, enquanto as fórmulas reforçadas contêm, em média, 10 a 15% de fibra em MS. Além de diminuir a digestibilidade, a fórmula enriquecida com fibras tende a ter um aporte energético inferior, o que não é desejável para o manejo de animais com anorexia e baixo apetite. Mais recentemente, Garcia-Mazcorro, Barcenas-Walls, Suchodolski, & Steiner (2017) reforçaram a ideia de que cada animal apresenta um microbioma fecal único, relativamente estável ao longo do tempo e que responde de forma diferente à manipulação dietética usando prebióticos e possivelmente outros compostos dietéticos. Para além disso, este estudo mostrou que o consumo até 31 mg/kg de prebióticos não alterou significativamente a abundância da maioria dos grupos bacterianos em fezes de cães saudáveis. As exceções incluem grupos bacterianos como *Dorea*, *Megamonas*, *Sutterella*, *Veillonaceae*, *Staphylococcaceae* e *Gammaproteobacteria*, que merecem atenção particular pois não foram acompanhadas por efeitos colaterais negativos. Outros estudos anteriores por Suchodolski et al. (2012) mostraram que cães com IBD apresentam um decréscimo do grupo *Veillonellaceae* no duodeno e, neste estudo em particular, verificou-se um aumento da sua abundância durante a administração do prebiótico em cães saudáveis. No entanto, não foram descartados outros mecanismos pelos quais os probióticos podem conferir um benefício para a saúde do hospedeiro como, por exemplo, a produção de AGCC sendo, por isso, necessários mais estudos de forma a explorar quais os efeitos potencialmente benéficos da terapia com prebióticos e qual o seu papel no prognóstico de animais afetados por CE.

11.1.7. Transplante de microbioma fecal

O transplante de microbioma fecal (TMF) implica a transferência de fezes de um doador saudável para o trato intestinal de um destinatário doente. Em medicina humana, a TMF tem sido aplicada principalmente em infeções recorrentes por *Clostridium difficile*. Os dados clínicos que estão disponíveis avaliando o uso de TMF para IBD em humanos ainda são limitados, mas estudos piloto sugerem que o taxa de resposta à TMF na inflamação intestinal crónica é muito menor em comparação com a infeção por *C. difficile* (Kelly et al., 2015).

O TMF pode ser realizada por via oral (por exemplo, cápsulas orais, sonda nasogástrica, nasoduodenal) ou retal (ou seja, enema retal e colonoscopia). A escolha da via oral pode ser uma opção mais fácil de executar, mas serão necessárias várias horas para que o transplante atinja o intestino grosso e a sobrevivência de organismos no estômago e no intestino delgado pode ser duvidosa. Casos mais graves e pacientes com sinais clínicos de intestino delgado

distal ou envolvimento do cólon podem exigir que o TMF seja realizado por via rectal (Kelly et al., 2015; Marks & Weese, 2016). As fezes são comumente suspensas em solução salina não bacteriostática, mas também já foram utilizados com sucesso outros diluentes como, por exemplo, iogurte, leite ou água engarrafada. As fezes do dador diluídas podem ser injetadas através do canal de biópsia de um colonoscópio ou administradas por meio de um tubo de borracha vermelho ou cateter de *Foley*. A suspensão deve ser filtrada através de compressas de gaze ou com um filtro de forma a remover partículas grandes antes da aspiração com a seringa. Ainda não existem recomendações sobre qual o volume de suspensão das fezes que deve ser depositado no cólon. Já foram utilizados regimes de dosagem como 10 ml/kg ou volumes específicos, como 300-500 mL/paciente. Um volume maior pode ser benéfico pois permite que o clínico deposite alíquotas de 90 a 100 mL em vários locais, incluindo o jejuno, íleo, cólon ascendente, cólon transverso e cólon descendente superior. No entanto, a administração de grandes volumes pode aumentar proporcionalmente a probabilidade de esforço e defecação rápida após o tratamento (Gerbec, 2016; Marks, 2016).

Cães de raças grandes ou pequenas poderão ser utilizados como potenciais doadores desde que sejam saudáveis, produzam fezes suficientes para o transplante e não tenham história de doença gastrointestinal ou de uso recente de antibióticos nos últimos 3 meses, dermatite atópica, alergia alimentar ou suspeita de infecção com agentes enteropatogénicos como bactérias, vírus, fungos e parasitas (Chaitman et al., 2017). Num relatório de caso por Weese (2013), o TMF foi administrado por enema num cão com IBD eosinofílica de dois anos de duração e sinais clínicos moderados com a terapia convencional. A consistência fecal melhorou em 24h e o cão estava clinicamente bem três meses após o tratamento. O sequenciamento do 16S rDNA revelou que dois dias após TMF, o microbioma fecal do paciente era idêntico ao do animal doador. Para além disso, na amostra fecal pós-TMF existia uma maior diversidade que na amostra pré-TMF.

Num trabalho publicado pela Universidade da Liubliana, na Eslovénia, em 2016 procurou-se avaliar o potencial terapêutico do TMF na restauração da homeostase gastrointestinal em cães. Foram selecionados três cães recetores com uma história semelhante de IBD e tratamento com tilosina que receberam o TMF por meio de um tubo nasoduodenal. Enquanto a condição de dois cães melhorou consideravelmente após o TMF, o terceiro cão não demonstrou qualquer resposta. Neste estudo, foram também colhidas amostras fecais semanalmente durante 2 meses e foi realizada a sua caracterização por sequenciamento do gene 16S rRNA e análise quantitativa por PCR. Em comparação com o cão doador, o microbioma de todas as três amostras fecais pré-transplante apresentou uma riqueza de espécies substancialmente menor e outras indicações de disbiose. Após o TMF, os valores do ID dos três cães eram negativos, tal como o animal doador, implicando uma diminuição da disbiose. Durante o período de dois meses, nos dois animais em que ocorreu uma melhoria no bem-estar geral e energia, o ID manteve-se maioritariamente abaixo de zero. Já no animal

que não respondeu a esta terapêutica alternativa, os valores do ID estava quase inteiramente dentro da área de disbiose e/ou valores inconclusivos, o que estava de acordo com a falta de resposta clínica observada neste animal (Gerbec, 2016).

Dada a escassez de dados demonstrando a sua segurança e eficácia clínica, a maioria dos autores recomendam o TMF apenas em casos de diarreia associada a *Clostridium* ou CEs refratárias ao tratamento com imunossuppressores (Gallo, Passaro, Gasbarrini, Landolfi, & Montalto, 2016; Marks, 2016; Simpson, 2012; Suchodolski, 2017).

11.2. Tratamento das enteropatias crónicas com hipoalbuminémia

O objetivo principal do tratamento da PLE num paciente estável compreende dois componentes principais constituídos por uma modificação dietética adequada e pela modulação da inflamação intestinal. No entanto, muitos pacientes apresentam-se à consulta um estado muito debilitado e podem, portanto, necessitar de tratamento mais intensivo de forma a recuperar rapidamente a pressão oncótica coloidal (Dossin & Lavoué, 2011; Gaschen, 2013).

11.2.1. Dieta

Cães com PLE estão num estado catabólico e, portanto, uma nutrição adequada é essencial. A modificação dietética nestes animais está centrada numa dieta altamente digerível com um conteúdo muito baixo em gordura, de 10 a 15% em relação à matéria seca, de forma a prevenir um agravamento da hipertensão linfática, com dilatação e rutura dos vasos. Adicionalmente, a dieta deve conter proteínas altamente biodisponíveis e ter um conteúdo baixo em fibra. Vários autores recomendam a manutenção da nova terapêutica dietética durante toda a vida do paciente de forma a prevenir recaídas (Gaschen, 2013; Nakashima et al., 2015; Peterson & Willard, 2003; Willard et al., 2000).

Se os resultados histopatológicos forem consistentes com uma linfangiectasia primária, uma boa taxa de sucesso foi reportada com a alimentação exclusiva com uma dieta com um conteúdo ultrabaixo em gordura. No entanto, a perda de linfa pode ser um fator desencadeante de um processo inflamatório e levar ao agravamento dos sinais clínicos com o tempo. Por esta razão, muitos vezes, são utilizados corticosteroides de forma concomitante até que os sinais clínicos estejam controlados (Peterson & Willard, 2003).

No caso da PLE estar associada a IBD, alguns autores reportaram boas taxas de sucesso com uma alimentação exclusiva com proteínas hidrolisadas ou com uma fonte nova de proteína para o animal (Gaschen, 2013; Rudinsky et al., 2017; Rudinsky, Rowe, & Parker, 2018; Simpson, 2012). O ponto fulcral nos animais com PLE, especialmente nos mais debilitados com anorexia e caquexia pronunciadas, é a aceitação da nova dieta. Nestes

animais, poderá ser importante inicialmente optar por uma dieta menos adequada, mas que o animal esteja interessado em comer, e depois, progressivamente ir alterando para a dieta ideal (Gaschen, 2013).

Alguns autores defendem que a administração exclusiva com uma dieta adequada poderá ser suficiente em animais clinicamente estáveis e com bom apetite. Num estudo retrospectivo realizado por Rudinsky et al. (2017) com 11 Yorkshire Terriers, foi possível observar uma completa resolução dos sinais clínicos num espaço de tempo variável entre uma semana a um mês, em 8 dos 11 animais, alimentados exclusivamente com a dieta terapêutica caseira ou com uma dieta comercial baixa em gordura ou com proteínas hidrolisadas. Importante destacar que o CCECAI dos animais incluídos neste estudo era muitas vezes inferior a 12, sendo que um índice igual ou superior a este valor já foi descrito previamente como um fator de previsão à falta de resposta ao tratamento (Allenspach et al., 2007)

Se não houver nenhuma resposta ao tratamento dietético durante uma semana com uma melhoria dos sinais clínicos e aumento da albumina ou se a situação clínica do animal se agravar, será necessário adotar por um tratamento mais intensivo (Dossin & Lavoué, 2011; Peterson & Willard, 2003; Simpson, 2012).

11.2.2. Antibióticos

Não há informação disponível sobre o uso exclusivo de antibióticos para o tratamento de PLE apesar de já terem sido relatados alguns casos com resposta positiva (Dossin & Lavoué, 2011). Alguns animais com PLE podem apresentar lesões císticas nas criptas intestinais que poderiam representar um potencial foco de infeção bacteriana. No entanto, um estudo por Craven, Duhamel, Sutter, & Simpson (2009) utilizando a técnica FISH não conseguiu encontrar evidências de uma associação bacteriana nos animais afetados.

Nos casos em que seja demonstrada uma inflamação granulomatosa ou neutrofílica na classificação histopatológica, a administração de antibióticos deverá ser considerada. Idealmente, deverá ser realizada a cultura bacteriana dos tecidos ou deve ser utilizada o método FISH de forma a confirmar o componente bacteriano da doença (Hall et al., 2017).

Atualmente, a papel da antibioterapia ainda não está esclarecido, sendo necessário realizar mais estudos de forma a avaliar uma possível componente bacteriana em animais com PLE. O seu uso empírico levanta também importantes preocupações sobre o possível desenvolvimento de uma disbiose intestinal crónica e o aparecimento de resistências (Dandrieux, 2016).

11.2.3. Imunossupressores

A imunossupressão é a base do tratamento nos casos de PLE mais graves. A primeira abordagem terapêutica consiste na administração de prednisona ou prednisolona inicialmente na dose 2 mg/kg BID durante 3–5 dias, depois 2 mg/kg SID até o animal demonstrar melhoras significativas. Assim como nos casos de CE com níveis séricos de albumina normais, a budesonida é considerada uma alternativa corticosteroide eficaz em pacientes com efeitos secundários mais graves derivados da administração da prednisona ou prednisolona (Dossin & Lavoué, 2011; Hall et al., 2017; Peterson & Willard, 2003). No entanto, é necessário ter em conta que a administração de corticosteroides tem normalmente um efeito catabólico, podendo ser altamente prejudicial em cães com um balanço energético negativo prévio. Para além disso, a administração nestes pacientes pode ainda agravar o estado hipercoagulabilidade e piorar o edema e a ascite ao promover a retenção de fluídos (Goodwin, Goggs, Chan, & Allenspach, 2011; Lahmers et al., 2016).

A azatioprina pode ser utilizada em animais refratários aos corticosteroides ou naqueles que apresentam recaídas após a retirada da prednisona ou da prednisolona. A dose oral inicial é 2 mg/kg diariamente durante 3 semanas com uma redução gradual posterior. Tendo em conta que podem ser necessárias até 3 semanas para este fármaco atingir o seu efeito máximo, esta deverá ser usada em combinação com a prednisona como tratamento inicial nos casos mais graves (Plumb & Plumb, 2011). Devido à rápida progressão e agravamento do quadro clínico nos animais mais afetados, poderá ser mais aconselhado o uso de outros imunossupressores com um período de atuação mais rápido como o clorambucilo (Dandrieux et al., 2013; Dossin & Lavoué, 2011). A dose inicial recomendada do clorambucilo é aproximadamente 4 mg/m² PO SID ou BID. Os efeitos secundários são raros e incluem a supressão da medula óssea. Deve ser por isso realizado um painel hematológico após 1 e 3 semanas de tratamento e repetido a cada 2–3 meses ou se a condição do animal se deteriorar (Plumb & Plumb, 2011). Um estudo retrospectivo elaborado por Dandrieux et al. (2013) procurou comparar o uso da combinação da prednisolona com o clorambucilo com a combinação da azatioprina com a prednisolona para o tratamento de cães com CE e PLE concomitante. Os autores comprovaram que a combinação terapêutica com o clorambucilo apresentava uma taxa de eficácia superior, levando a um maior aumento da concentração sérica da albumina e do peso do animal durante o tratamento e a um tempo de sobrevivência mais prolongado.

O uso de ciclosporina na dose 5 mg/kg PO SID também está recomendado como alternativa em pacientes que não responderam aos corticosteroides. Existem ainda poucos estudos disponíveis que avaliem a sua eficácia a longo prazo (Allenspach et al., 2007; Hall et al., 2017). Allenspach, Rüfenacht, et al. (2006) estudaram a eficácia clínica da ciclosporina em 14 cães com IBD grave refratária aos corticosteroides, sendo que 5 destes apresentavam sinais de

PLE. 4 destes 5 animais apresentaram uma boa resposta à ciclosporina tendo conseguido parar completamente o tratamento após 10 semanas. Por outro lado, Dandrieux et al. (2013) apresentaram resultados menos promissores em relação a este fármaco no seu estudo, em que apenas 1 animal dos 4 cães refratários ao tratamento com outros imunossuppressores foi capaz de responder à ciclosporina.

11.2.4. Coloides

A terapia com coloides está recomendada de forma a restabelecer a pressão oncótica quando a concentração de proteínas é inferior a 3.5 mg/L e/ou a concentração da albumina sérica é inferior a 1.5 g/dL (Trow, Rozanski, deLaforcade, & Chan, 2008; Viganó, Perissinotto, & Bosco, 2010). No entanto, a escolha do coloide mais indicado para estes casos é ainda um tema com alguma controvérsia em Medicina Veterinária e ainda não foram estabelecidas *guidelines* de tratamento (Hall et al., 2017). Coloides sintéticos como o hidroxietilamido ou o dextrano são normalmente os mais utilizados nos casos de PLE mais graves. Ao contrário dos cristaloides, os coloides são compostos por moléculas com um tamanho superior que a albumina, conseguindo substituir a sua função e sendo responsáveis por expandir o volume sanguíneo. Coloides naturais como a albumina sérica humana (ASH) apresentam um custo elevado e o seu efeito terapêutico benéfico em animais com PLE ainda não foi determinado. A maioria dos autores recomendam reservar o seu uso para pacientes em estado crítico com edema marcado de forma a minimizar os riscos da anestesia geral (Gaschen, 2013; Neiger, 2013). Tendo em conta que a hipoalbuminemia grave promove a formação de edema tecidual devido à diminuição marcada da pressão osmótica coloidal, a administração de coloides poderá também ser útil para a diminuição da formação de edema intestinal que pode ser responsável por agravar a desregulação da função do TGI, tanto ao nível da motilidade como da capacidade de absorção (Chan, 2013).

Num grupo de 73 cães com PLE grave, a administração de ASH a 25% permitiu aumentar significativamente a concentração de albumina sérica, proteínas totais e pressão coloide osmótica, mas 17 destes animais (23%) apresentaram pelo menos uma complicação imediata e 3 dos 73 (4%) demonstraram complicações tardias que poderiam ser potencialmente atribuídas à terapia com ASH. A mortalidade geral foi elevada e não foi possível esclarecer se esta estava relacionada com o uso da ASH, a uma doença subjacente ou se a taxa verdadeira de complicações terá sido subestimada pelos autores (Trow et al., 2008). Mais recentemente, um estudo retrospectivo por Viganó et al. (2010) demonstrou que era seguro administrar ASH a 5%, na dose 2 mL/kg/h durante 10 h/dia em pacientes com hipoalbuminemia grave. A escolha de uma dose mais diluída permitiu um aumento mais lento e fisiológico da concentração de albumina sérica de forma a diminuir o risco de sobrecarga de volume e o desenvolvimento de reações adversas à transfusão. Foi necessário uma média de 4 dias para

a albumina atingir valores de 2.0 g/dL. Neste estudo, a taxa de sobrevivência em cães foi de 75% e não foram observados quaisquer sinais de reação de hipersensibilidade como anafilaxia, angioedema ou urticária. No entanto, a terapia com ASH deverá ser sempre realizada com extrema precaução, sendo aconselhado que esta não exceda mais de 7 dias após a transfusão inicial devido à possibilidade de aparecimento de anticorpos (Walker & Holowaychuk, 2017).

O uso de albumina específica canina apresenta resultados promissores, mas ainda não está universalmente disponível. Um estudo demonstrou que esta permitiu um aumento da concentração sérica de albumina e da pressão osmótica colóide com níveis de albumina superiores persistentes após 24 horas quando comparados com o grupo de controlo e sem o aparecimento de nenhuma reação de hipersensibilidade (Craft & Powell, 2012).

A transfusão de plasma nestes animais é desaconselhada, pouco eficaz e improdutiva devido à sua baixa concentração em albumina. Seriam necessários aproximadamente 45 ml/kg de plasma para conseguir aumentar a concentração sérica de albumina em 1 g/dL, o que significaria uma sobrecarga de volume com exacerbação da perda de fluídos e formação de edemas (Hill, 2013).

11.2.5. Antiagregantes plaquetários

Apesar de ainda não haverem estudos suficientes que avaliem a eficácia da adoção de uma tromboprolifaxia primária nos pacientes em estado hipercoagulável, acredita-se que o seu uso irá melhorar significativamente o prognóstico e a resposta ao tratamento nestes pacientes. A escolha do antitrombótico ideal deve ser baseada em vários parâmetros como a duração da terapia, via de administração e a relação custo-benefício. Fármacos como a aspirina na dose 0.5–1.0 mg/kg PO BID ou o clopidogrel na dose 2 mg/kg SID estão indicados como profilaxia do TE arterial. Para o TE venoso, é necessário administrar fármacos anticoagulantes como a heparina não-fracionada, heparina de baixo peso molecular ou a varfarina (Forman, 2016).

12. Prognóstico das enteropatas crónicas

A abordagem terapêutica dos animais com CE baseia-se sobretudo na resposta clínica ao tratamento e na normalização da concentração sérica de albumina nos pacientes com PLE. As respostas ao tratamento são variáveis e as recaídas são frequentes. Enquanto que Simmerson et al. (2014) demonstrou no seu estudo que o tempo de sobrevivência dos animais com CE estava diretamente correlacionado com níveis baixos de ureia no sangue e pela gravidade da hipoalbuminémia, dois outros estudos relataram que níveis elevados de ureia no sangue e a presença de hipoalbuminémia, independentemente da sua gravidade, estavam

negativamente correlacionados com prognóstico (Nakashima et al., 2015; Owens, Parnell, & Moore, 2011). Por outro lado, no estudo de Equilino et al. (2015), o tempo de sobrevivência dos animais não foi significativamente influenciado pela concentração sérica inicial de albumina. A ascite ou derrame pleural são sinais comuns em cães com PLE mas não parecem ser indicadores de um prognóstico negativo (Simmerson et al., 2014).

Os índices de atividade clínica para avaliar a gravidade da doença podem também ser utilizados como marcadores do prognóstico. De acordo com um estudo por Allenspach et al. (2007), um CCECAI superior a 12 na altura do diagnóstico está significativamente associado uma CE refratária ao tratamento e à eutanásia do animal num período médio de 3 anos. Em contrapartida, em estudos por Equilino et al. (2015) e Gianella et al. (2017), o tempo de sobrevivência não foi significativamente influenciado pelo CIBDAI ou CCECAI na altura do diagnóstico.

Também Allenspach et al. em 2007 destacou a importância da suplementação da cobalamina nos animais com CE, sendo que, neste estudo, um nível inferior a 200 ng/L foi identificado com um fator de risco para um prognóstico negativo.

Capítulo II – Estudo retrospectivo

1. Objetivos

Este estudo retrospectivo teve como principal objetivo integrar as características clínicas, metodologias utilizadas no diagnóstico e na abordagem terapêutica da CE em cães, avaliar a resposta ao tratamento e identificar possíveis fatores associados com o prognóstico como a idade dos animais, a gravidade da classificação histopatológica e a concentração de albumina sérica.

2. Materiais e métodos

Este trabalho baseia-se num estudo retrospectivo realizado entre janeiro de 2015 e fevereiro de 2018 a partir de fichas clínicas arquivadas de 43 animais com CE diagnosticados por um especialista do serviço de medicina interna do Hospital ARS Veterinária, de animais de companhia, em Barcelona, Espanha.

A informação disponível para a população total incluía: anamnese, sinais clínicos atuais, história clínica anterior e carta do médico veterinário assistente quando aplicável, exame físico detalhado, lista de diagnósticos diferenciais, resultados dos exames de diagnóstico complementares realizados e um relatório final descrevendo todos os procedimentos realizados no hospital para o médico veterinário assistente e o dono do animal.

Os cães eram elegíveis para o estudo se apresentassem sinais clínicos consistentes com CE como vômito, diarreia ou perda de peso durante pelo menos 3 semanas e tivessem realizado a exclusão de outras causas sistémicas de sinais gastrointestinais crónicos, como insuficiência pancreática exócrina, pancreatite ou hipoadrenocorticismo. Para tal, todos os animais realizaram testes diagnósticos como hemograma, análises bioquímicas, ionograma, urianálise, medição do cortisol basal, da TLI Canina e dos níveis de ácido fólico e cianocobalamina. Todos os cães incluídos apresentavam também um estudo ecográfico abdominal, exame coprológico e cultura fecal quando era indicado. Se ainda não tivesse sido realizado pelo médico veterinário assistente, todos os animais clinicamente estáveis eram normalmente submetidos a um tratamento empírico com fenbendazol 50 mg/kg PO SID durante 3 a 5 dias de modo excluir a presença de um parasitismo oculto.

Cães com CE que demonstraram uma resolução dos seus sinais de doença gastrointestinal após a administração nova dieta terapêutica comercial ou caseira quando tal era solicitada pelo dono do animal em questão foram diagnosticados com FRE.

Cães com CE que não responderam nem à dieta nem aos antibióticos, mas que mostraram uma resposta positiva à administração de um tratamento imunossupressor, com níveis de albumina sérica e proteínas totais dentro dos intervalos de referência e onde a inflamação

intestinal idiopática estava documentada por histopatologia foram diagnosticados com IRE não PLE.

Cães com CE e hipoalbuminemia (< 2 g/dL) de origem gastrointestinal comprovada acompanhada ou não hipoglobulinemia e evidências histopatológicas de linfangiectasia e/ou inflamação gastrointestinal nas biópsias colhidas por endoscopia ou laparotomia foram diagnosticados com PLE.

Animais com CE cujo o diagnóstico definitivo era inconclusivo ou com suspeita de IRE não documentada por histopatologia foram excluídos do estudo.

A análise de dados foi realizada com recurso ao programa SPSS[®] versão 22 (IBM Corporation, 2003) e Microsoft Excel[®] 2016.

Em primeiro lugar foi realizado um conjunto de análises com vista à caracterização da amostra. Para tal foram calculadas médias (M), desvios padrão (DP), frequências absolutas (n) e relativas (%). Foi ainda verificado se era cumprido o pressuposto de normalidade das distribuições nas variáveis quantitativas com uso do teste *Shapiro-Wilk*, indicado para amostras de dimensão inferior a 50.

Para comparar a idade média na altura do diagnóstico entre os diferentes tipo de CE foi utilizado o teste estatístico ANOVA.

Foram utilizados testes não paramétricos como o teste Mann-Whitney-U para comparar variáveis independentes como a idade ou a CC dos animais e o teste de Wilcoxon para comparar variáveis emparelhadas como a concentração de albumina no início e após um mês de tratamento.

Foi também utilizado o teste de correlação de Spearman para verificar se existia uma associação entre a idade dos animais ou a concentração de albumina sérica inicial e o facto de estes serem refratários ao tratamento com prednisolona ou se a concentração de albumina sérica inicial estava relacionada com os resultados histopatológicos.

Foi considerando um nível de significância de $p < 0,05$. Para variáveis com valores de $p\text{-value} \leq 0,05$, foi considerado que existiam diferenças significativas. Em todos os testes estatísticos foi utilizado um intervalo de confiança de 95%.

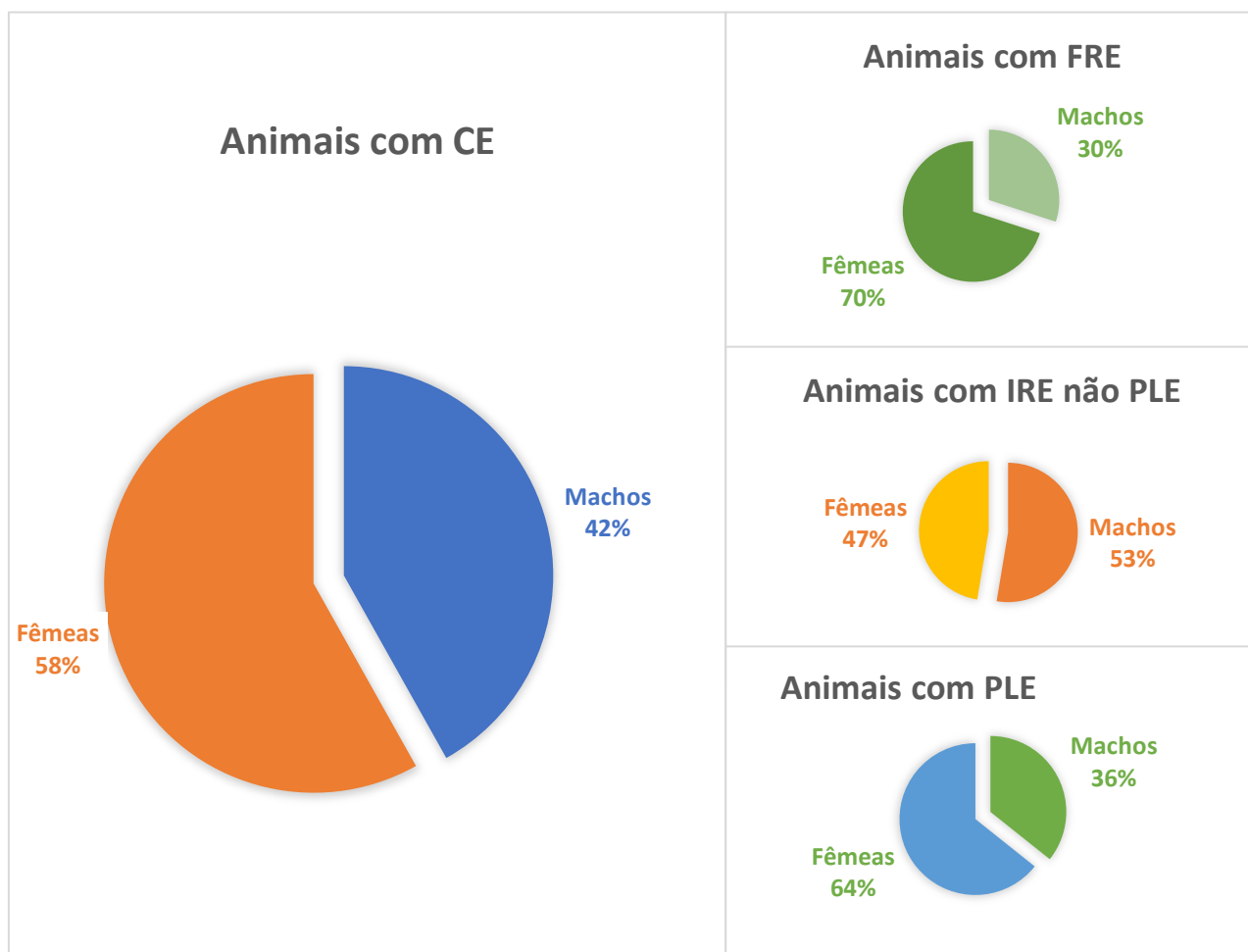
3. Resultados

3.1 Caracterização da população em estudo

Dos 43 canídeos com CE incluídos no estudo, 10 foram diagnosticados com FRE e 33 com IRE. Os animais deste último grupo foram subdivididos em dois grupos conforme a sua concentração de albumina sérica, sendo que 19 foram colocados no grupo com IRE não PLE e os restantes 14 no grupo com PLE.

A população de cães com CE era constituída por 18 (42%) machos e 25 fêmeas (58%). No grupo de 10 animais com FRE, 3 (30%) eram machos e 7 (70%) eram fêmeas. No grupo de 19 animais com IRE não PLE, 10 (53%) eram machos e 9 (47%) eram fêmeas. No grupo de 14 animais com PLE, 5 (36%) eram machos e 9 (64%) eram fêmeas.

Gráfico 2. Distribuição da população de cães pelo sexo.

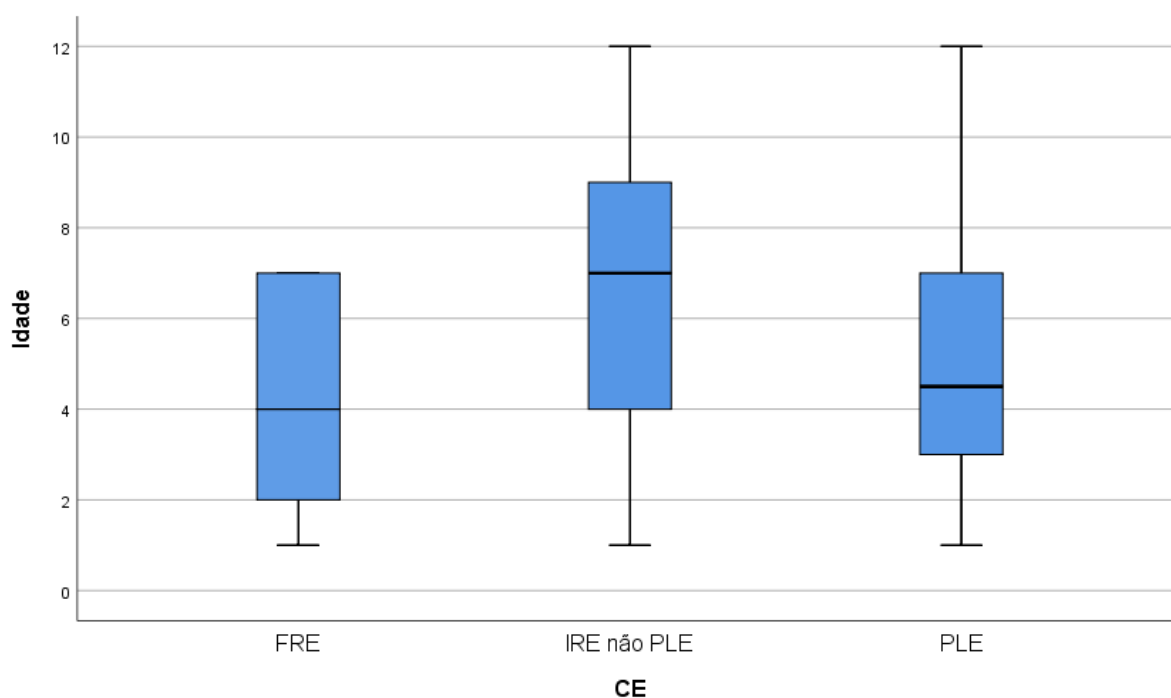


Em relação à distribuição por raças, foi possível observar uma maior prevalência de cães sem raça definida (7), seguida da raça Yorkshire Terrier (5); Bichon Maltês (3); Pastor Alemão (3); Schnauzer (3); Caniche (2); Cavalier King Charles Spaniel (2); Chihuahua (2); Fox Terrier (2);

Pointer Inglês (2); Akita Inu (1); Boxer (1); Bulldog Americano (1); Cruzado de Mastim (1); Labrador Retriever (1); Pastor-Catalão (1); Pitt Bull (1); Podengo Canário (1); Rottweiler (1); Staffordshire Bull Terrier (1); Weimaraner (1) e West Highland Terrier (1).

A idade média da população total na altura do diagnóstico foi de 6,4 anos, com idades variando entre 1 e os 12 anos. Cinquenta por cento da população dos animais com FRE estava localizada entre os 2 e os 6 anos (média = 4 anos) na altura do diagnóstico, sendo este o grupo onde as idades estavam menos dispersas. A população de animais com IRE não PLE apresentava uma média de idade superior à dos restantes grupos (6,2 anos). A média de idades da população de animais com PLE foi de $5,4 \pm 0,935$ anos. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na idade na altura do diagnóstico entre os três grupos de animais ($p > 0,05$).

Gráfico 3. Distribuição de idades conforme o diagnóstico de CE.



3.2. Sinais clínicos

Todos os animais incluídos no estudo apresentavam diarreia crónica com uma duração superior a 3 semanas. Em quase todos os animais esta tinha um carácter misto exceto em 2 animais com IRE não PLE e 2 com FRE, em que as características associadas apontavam para uma diarreia com origem no intestino grosso (tenesmo, hematoquémia, presença de muco e aumento da frequência sem perda de peso associada).

Para além da diarreia, os sinais clínicos mais frequentes em animais com FRE foram vômito e a presença de problemas dermatológicos como prurido, alopecia parcial do tronco, cabeça,

pavilhões auriculares, cauda, região inguinal ou das extremidades distais, atrofia cutânea, eritema interdigital nas extremidades ou dermatite atópica associada.

A hiporexia foi a segunda queixa principal apresentada pelos animais com IRE. Animais com IRE não PLE apresentam também frequentemente perda de peso associada enquanto nos animais com PLE, o terceiro sinal clínico mais frequente foi uma distensão abdominal pronunciada derivada de uma hipoalbuminemia grave.

Tabela 2. Frequência dos sinais clínicos observados.

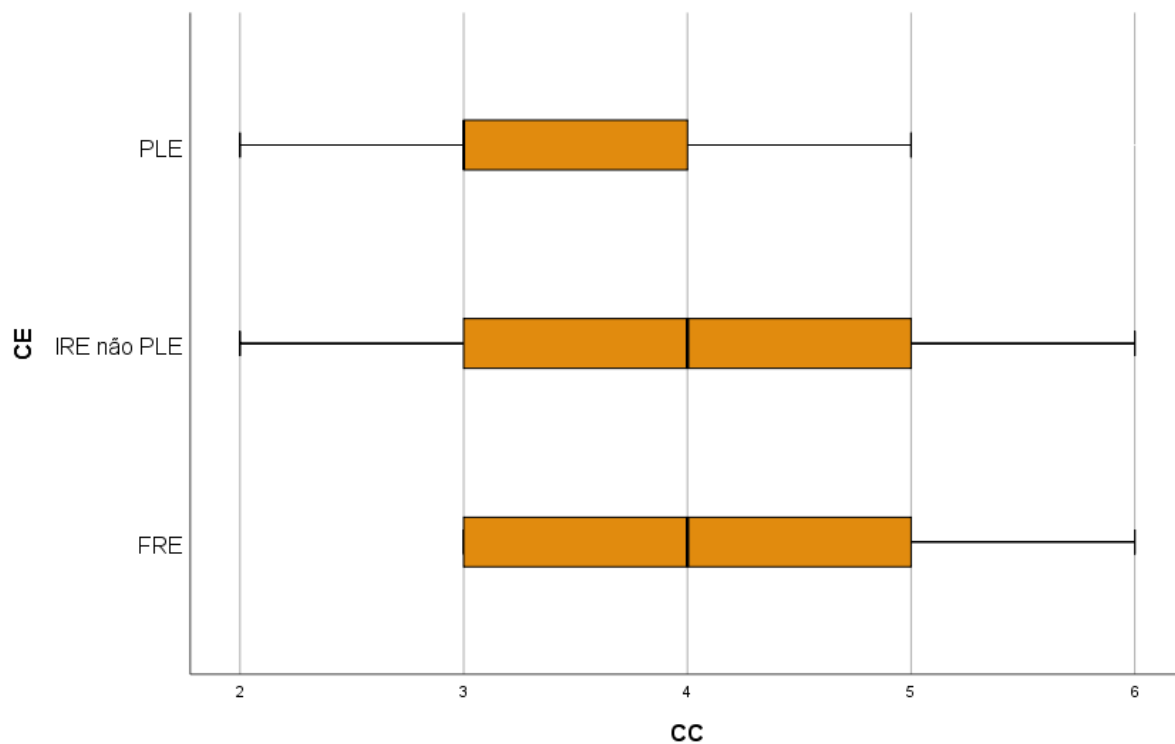
Sinal clínico	FRE	IRE		Total
		IRE não PLE	PLE	
Diarreia	10 (100%)	19 (100%)	14 (100%)	43 (100%)
Hiporexia	3 (30%)	12 (63%)	11 (79%)	26 (60%)
Perda de peso	3 (30%)	11 (58%)	7 (50%)	21 (49%)
Vômito	5 (50%)	8 (42%)	6 (43%)	19 (44%)
Hematoquécia	2 (20%)	8 (42%)	4 (29%)	14 (33%)
Muco nas fezes	3 (30%)	7 (37%)	2 (14%)	12 (28%)
Prostração	1 (10%)	5 (26%)	6 (43%)	12 (28%)
Tenesmo	2 (20%)	7 (37%)	2 (14%)	11 (26%)
Distensão abdominal	0	0	9 (64%)	9 (21%)
Problemas dermatológicos	5 (50%)	1 (5%)	2 (14%)	8 (19%)
Borborignos	0	4 (21%)	1 (7%)	5 (12%)
Dor abdominal	0	4 (21%)	1 (7%)	5 (12%)
Coprofagia	1 (10%)	1 (5%)	1 (7%)	3 (7%)
Debilidade terço posterior	0	2 (11%)	0	2 (5%)
Edema escrotal e prepucial	0	0	1 (7%)	1 (2%)

A condição corporal (CC) de todos os animais incluídos no estudo foi também avaliada numa escala de 1 a 9, sendo que uma CC entre 4-5 é considerada a ideal.

Cinquenta por cento dos animais com PLE apresentavam uma CC abaixo do desejado.

As diferenças de CC entre os vários tipos de CE não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Gráfico 4. Distribuição da CC conforme o diagnóstico de CE.



A duração média dos sinais clínicos descritos pelos proprietários antes do diagnóstico de CE foi de 6,33 meses, variando entre as 4 semanas e os 2 anos.

Dos três tipos de CE, o grupo de animais com PLE apresentou ao tempo médio mais curto para a obtenção do diagnóstico final, com uma média de $4 \pm 5,63$ meses.

Gráfico 5. Duração aproximada dos sinais clínicos até à obtenção do diagnóstico de FRE.

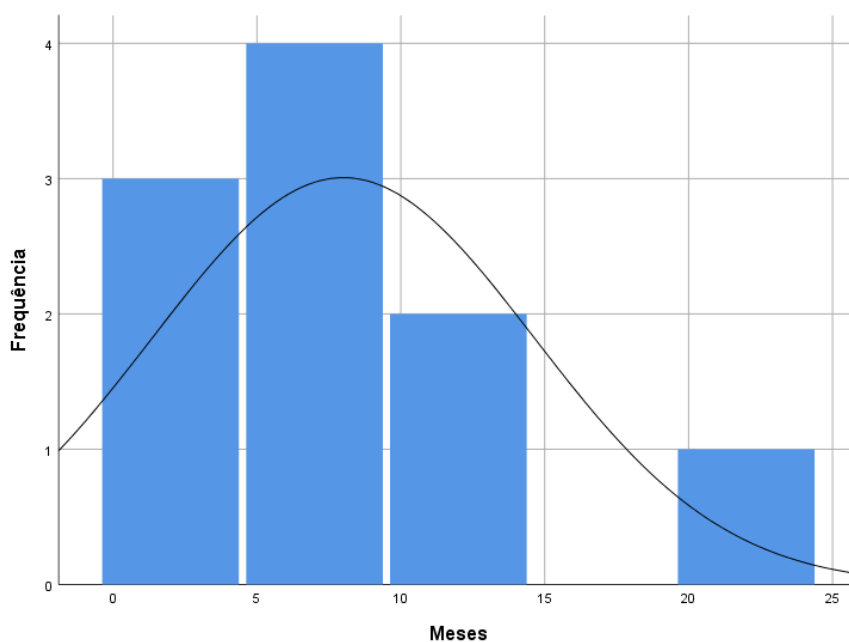


Gráfico 6. Duração aproximada dos sinais clínicos até à obtenção do diagnóstico de IRE não PLE.

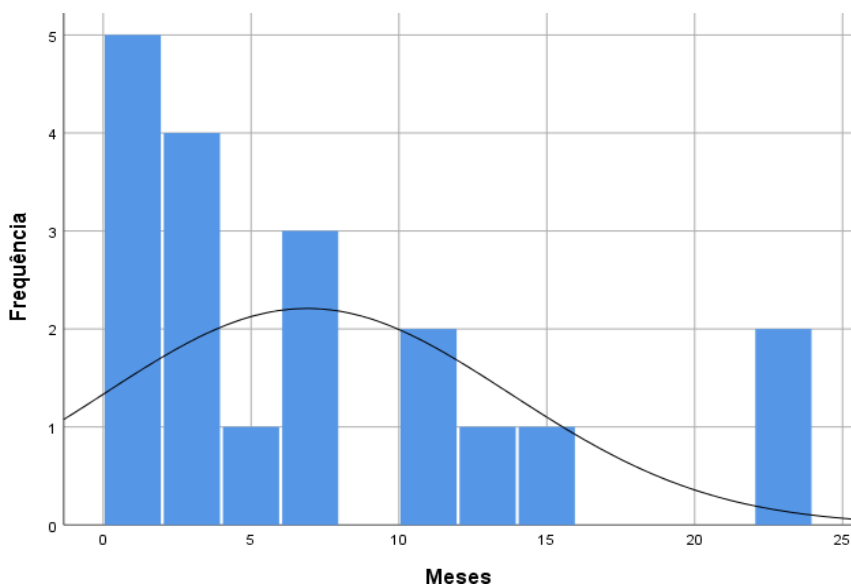
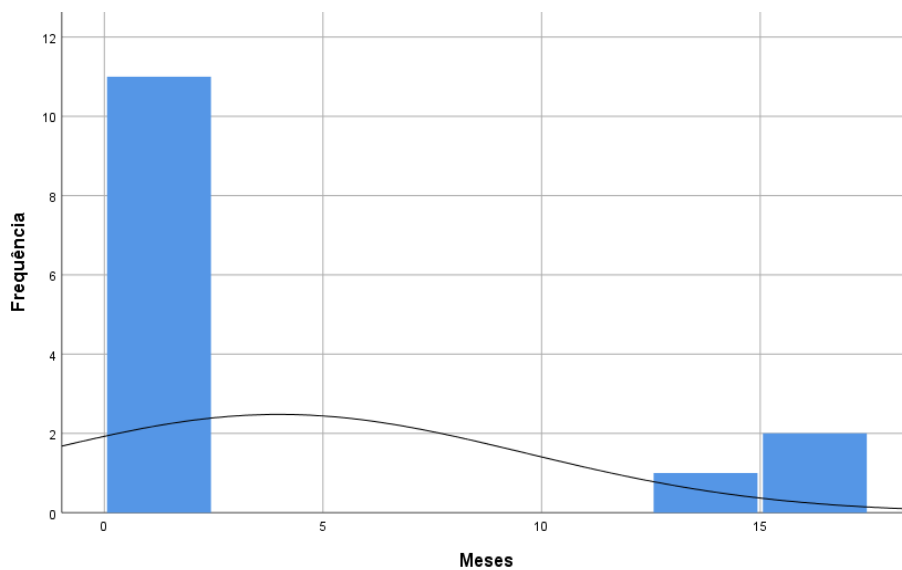


Gráfico 7. Duração aproximada dos sinais clínicos até à obtenção do diagnóstico de PLE.



3.3. Análises laboratoriais

Todos os animais realizaram a análises laboratoriais de rotina quando se apresentaram à consulta no hospital. Todos os animais com FRE apresentavam um hemograma e perfil bioquímico sem alterações dignas de registo. Apesar do número de alterações observado ser relativamente superior nos animais com IRE não PLE, mais de metade destes apresentam também um hemograma e perfil bioquímico normal mesmo quando os seus sinais clínicos eram acentuados (Tabela 3). Já nos animais com PLE foi possível observar uma hipoalbuminémia, sendo que o valor mais baixo de albumina registado foi de 1,2 g/dL. 79%

dos casos com hipoalbuminemia, apresentavam também níveis de globulinas e de colesterol diminuídos associados (Tabela 4).

Tabela 3. Alterações analíticas presentes nos animais com IRE não PLE.

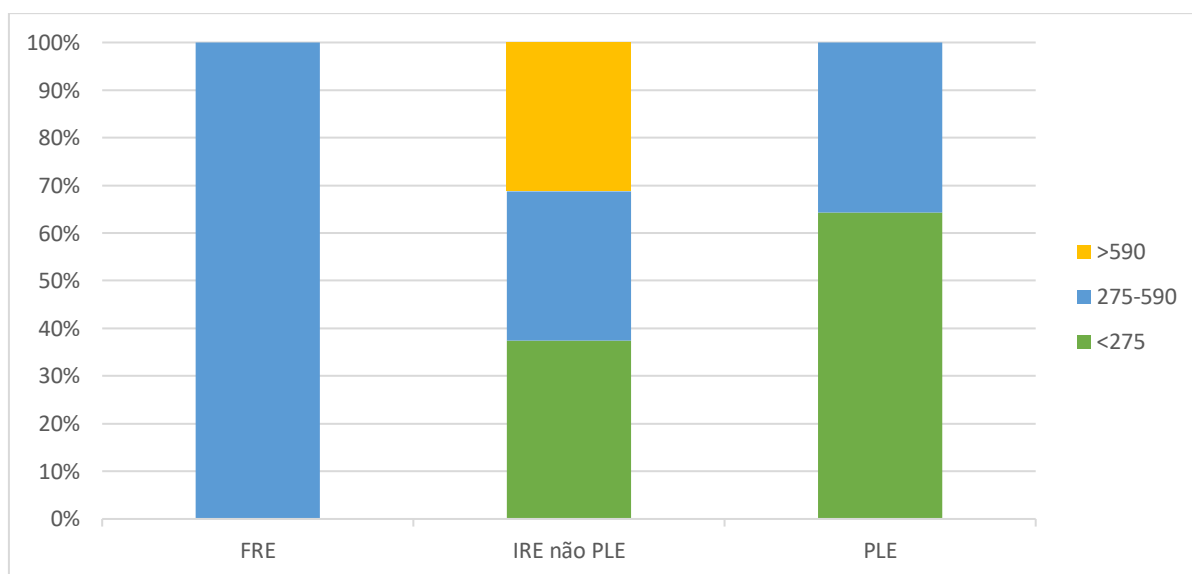
Alterações hematológicas e bioquímicas nos animais com IRE não PLE	n (%)	Média ±SD	Unidades	Valores de referência
Sem alterações	10(53%)			
Aumento da FAS	5 (26%)	356,8 ±293,31	U/L	0-180
Neutrofilia	3 (16%)	22,08 ±7,14	K/μL	2.95-11.64
Leucocitose	3 (16%)	25,38 ±7,47	K/μL	5.05-16.76
Hipercolesterolemia	2 (11%)	297 ±11,31	mg/dL	125-255
Hipocolesterolemia	2 (11%)	95,5 ±3,53	mg/dL	125-255
Hipoproteinemia	2 (11%)	4,25 ±0,07	g/dL	5.2-8.2
Trombocitose	2 (11%)	581 ± 38,18	K/μL	148-484
Hipoglobulinemia	1 (5%)	2,3	g/dL	2.5-4.5
Aumento da GGT	1 (5%)	289	U/L	0-100
Eosinofilia	1 (5%)	1.53	K/μL	0.06-1.23

Tabela 4. Alterações analíticas presentes nos animais com PLE.

Alterações hematológicas e bioquímicas nos animais com PLE	n (%)	Média ±SD	Unidades	Valores de referência
Hipoalbuminemia	14 (100%)	1,46 ± 0,22	g/dl	2,2 – 3,9
Hipoglobulinemia	11 (79%)	1,51 ± 0,44	g/dl	2.5 - 4.5
Hipocolesterolemia	11 (79%)	72,9 ± 24,83	mg/dl	110 - 320
Hipoproteinemia	9 (64%)	3,02 ± 0,63	g/dl	5.2-8.2
Neutrofilia	8 (57%)	21,19 ± 5,80	K/μL	2.95-11.64
Trombocitose	7 (50%)	660,71± 177,58	K/μL	148-484
Hipocalcemia	7 (50%)	5,39 ± 0,91	mg/dL	7.9-12.0
Leucocitose	6 (43%)	24,7 ± 3,91	K/μL	5.05-16.76
Hematócrito diminuído	2 (14%)	31,15± 4,59	%	37.3-61.7
Hemoglobulina diminuída	2 (14%)	10,1± 0,70	g/dL	13.1-20.5
Aumento da GGT	2 (14%)	218± 134,35	U/L	0-100
Aumento da ALT	1 (7%)	400	U/L	10 - 125
Linfopenia	1 (7%)	0,80	K/μL	1.05-5.10

A concentração de cobalamina sérica foi medida em 40 animais incluídos no estudo como demonstrado no gráfico 8. Todos os animais com FRE apresentavam uma concentração desta vitamina dentro dos valores de referência (275-590). A média da concentração neste grupo de animais foi de $408,8 \pm 43,42$. Foi possível obter os valores de cobalamina sérica em dezasseis animais com IRE não PLE. Seis (38%) destes animais apresentam valores abaixo dos níveis de referência, com um valor médio de $171,17 \pm 59,87$. Quatro destes animais apresentam também níveis baixos de ácido fólico associado. Nos restantes animais com IRE não PLE, seis apresentavam concentrações ligeiramente aumentadas e seis mostravam valores dentro do intervalo de referência (8,2-13). Nove (64%) dos animais com PLE apresentavam também uma deficiência nesta vitamina, com uma concentração média de $155,5 \pm 49,17$. Sete destes animais apresentavam também uma deficiência em ácido fólico. Nos restantes animais com PLE, a concentração de ácido fólico estava dentro do intervalo de referência. Os valores séricos de cobalamina no grupo de animais com FRE e no grupo de animais com IRE apresentaram diferenças significativas ($P=0,01$; teste Mann-Whitney U). Por outro lado, não se encontraram diferenças significativas entre os dois grupos de animais com IRE ($P=0,30$; teste Mann-Whitney U).

Gráfico 8. Concentrações de cobalamina sérica nos animais com CE.



3.4. Ecografia

Todos os animais deste estudo foram submetidos a um estudo ecográfico. Enquanto metade dos animais com FRE apresentaram um exame ecográfico normal, em 74% dos animais com IRE não PLE era possível observar alterações ecográficas no TGI. Nestes dois grupos, o espessamento difuso da parede intestinal e a presença de ansas intestinais dilatadas foram as alterações mais frequentemente observadas. Todos os animais com PLE apresentavam

alterações importantes no seu exame ecográfico como o espessamento difuso da parede intestinal ou a presença de líquido livre. A presença de estrias hiperecoicas na mucosa intestinal, descrita como sendo altamente característica de animais com PLE apenas foi observada em 3 animais.

Tabela 5. Principais alterações ecográficas nos animais com CE.

	FRE	IRE não PLE	PLE	Total
Sem alterações significativas na ecografia abdominal	5 (50%)	5 (26%)	0	10 (23%)
Espessamento difuso da parede intestinal	3 (30%)	8 (42%)	12 (86%)	23 (53%)
Ansas intestinais dilatadas com conteúdo ecogénico	4 (40%)	6 (32%)	1 (7%)	11 (26%)
Presença de líquido livre	0	0	9 (64%)	9 (21%)
Aumento da ecogenicidade da camada muscular	0	0	6 (43%)	6 (14%)
Perda da motilidade intestinal	1 (10%)	3 (16%)	2 (14%)	6 (14%)
Espessamento da parede do estomago	0	2 (11%)	2 (14%)	4 (9%)
Presença de estrias hiperecoicas na mucosa intestinal	0	1 (5%)	3 (21%)	4 (9%)
Linfoadenomegália mesentérica	0	0	4 (29%)	4 (9%)

3.5. Avaliação endoscópica

Foi realizada gastroduodenoscopia em 32 animais e colonoscopia em 26 animais. Em apenas um animal com PLE a colheita de biópsias foi realizada por laparotomia exploratória pois este apresentava uma elevação dos ácidos biliares associada a um aumento das enzimas hepáticas, tendo, portanto, indicação para a colheita simultânea de biópsias do fígado. Nos resultados de histopatologia foi observado um infiltrado leve de linfócitos em volta dos espaços porta, diagnosticado como uma extensão do processo inflamatório intestinal.

O primeiro passo na avaliação endoscópica do estômago foi a avaliação da presença de corpos estranhos, massas, pólipos, parasitas ou outros conteúdos como muco, bÍlis ou comida. Posteriormente foram avaliados parâmetros como a hiperémia/vascularidade, edema, descoloração, friabilidade, presença de erosões, úlceras ou hemorragia, sendo estes classificados pelo endoscopista numa escala de 0 a 3, conforme a sua gravidade (normal=0;

ligeiro=1; moderado=2; grave=3). Em 23 animais não foram encontradas alterações significativas em nenhum destes parâmetros, tendo sido considerada a imagem gastroscópica obtida como normal. Foi possível verificar que 11 destes 23 animais, apresentaram também uma classificação histopatológica normal e nos restantes o grau de infiltração linfoplasmocítica foi considerado como leve. Nesta região gástrica foi também avaliada a capacidade de insuflar o lúmen, o aspeto do esfíncter gastroesofágico e facilidade de passagem pelo piloro. O local da colheita de biópsias (fundo, corpo, incisura, antro ou piloro) foi também registado.

Nas imagens 4 e 5 é possível observar exemplos de imagens gastroscópicas obtidas para o mesmo animal com um grau de infiltração linfoplasmocítica considerado como leve nos resultados da histopatologia.

Figura 5. Imagem gastroscópica dum animal com hiperemia, edema e descoloração leves (Imagem original).



Figura 4. Imagem gastroscópica da zona do piloro demonstrando áreas com erosão (Imagem original).



Na duodenoscopia foi também realizada uma avaliação inicial para presença de corpos estranhos, massas, pólipos, parasitas ou outros conteúdos como muco, bÍlis ou comida.

Depois, o endoscopista classificava de igual forma, parâmetros como a hiperémia/vascularidade, edema, descoloração, friabilidade, textura, presença de erosões, úlceras ou hemorragia e dilatação dos vasos linfáticos. Todos os animais que realizaram a duodenoscopia apresentavam alterações macroscópicas do aspeto da mucosa, sendo que o grau dessas lesões foi classificado como grave em 65% dos casos.

Enquanto que na figura 6 é possível observar uma imagem obtida durante a duodenoscopia de animal incluído no grupo IRE não PLE, na figura 7 é possível observar uma imagem obtida durante a duodenoscopia de animal incluído no grupo PLE. Em ambos os animais, a classificação histopatológica foi considerada como grave.

Figura 7. Imagem da duodenoscopia dum animal com hiperemia, edema, descoloração e friabilidade graves e hemorragia e linfangiectasia leves (Imagem original).

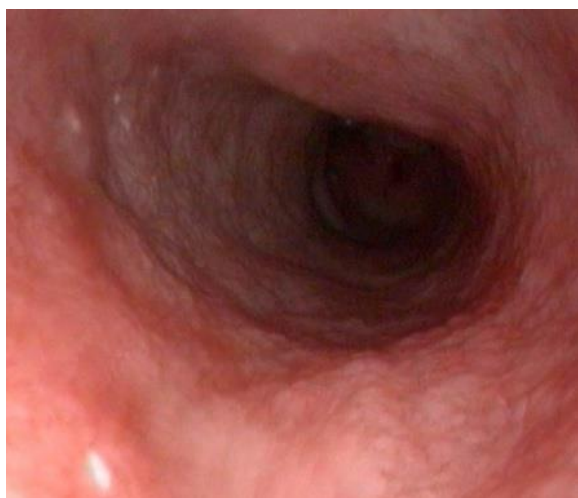
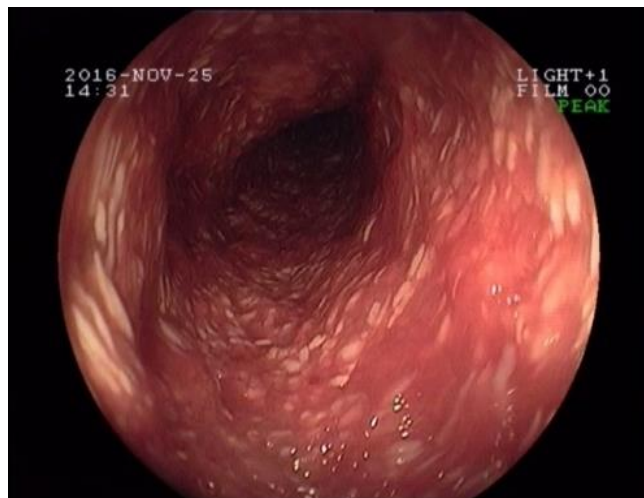


Figura 6. Imagem de uma duodenoscopia dum animal com a mucosa irregular, friável e uma dilatação dos vasos linfáticos grave (Imagem original).



3.6. Histopatologia

Todos os 33 animais com IRE foram submetidos a recolha de biópsias e avaliação histopatológica de forma a obter um diagnóstico definitivo. O estômago estava afetado em 21/33 (64%) canídeos, sendo que a gravidade histológica foi avaliada como leve em 17 destes animais, moderada em 4 e moderada a intensa em apenas 1 animal. Em 4 animais com IRE não PLE e 2 com PLE não foi possível obter amostras da mucosa do cólon. A distribuição dos pacientes pelos graus de gravidade das lesões encontra-se expressa nos gráficos 9, 10, 11 e 12.

Gráfico 9. Distribuição do grupo de animais com IRE não PLE em função da gravidade histológica do duodeno.

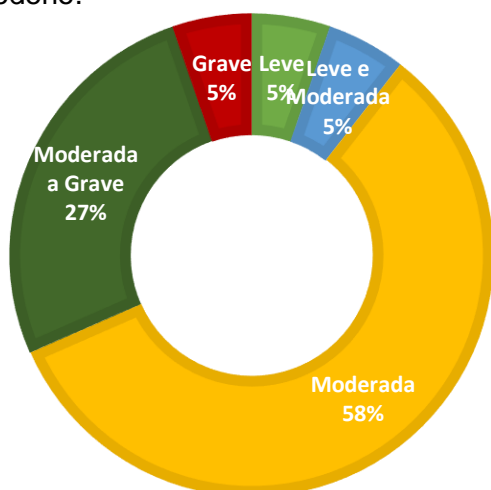


Gráfico 10. Distribuição do grupo de animais com IRE não PLE em função da gravidade histológica do cólon.

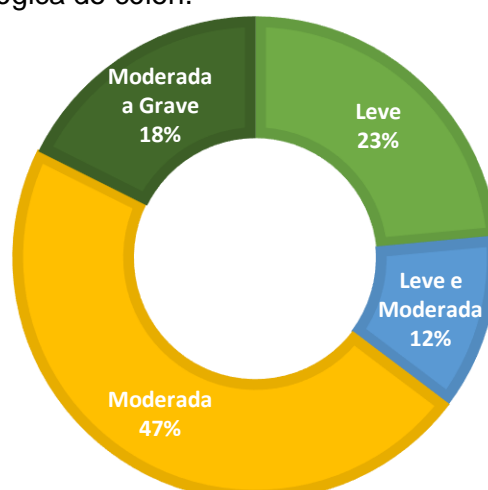


Gráfico 11. Distribuição do grupo de animais com PLE em função da gravidade histológica do duodeno.

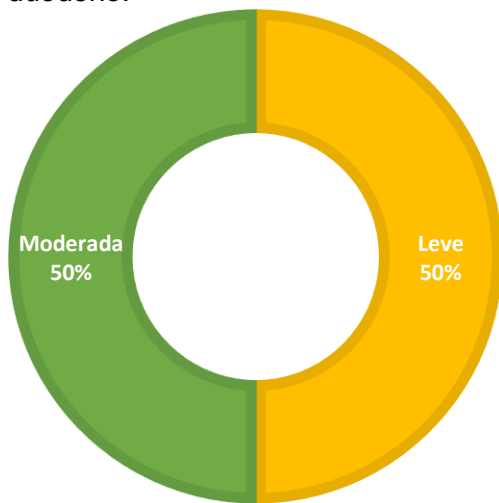
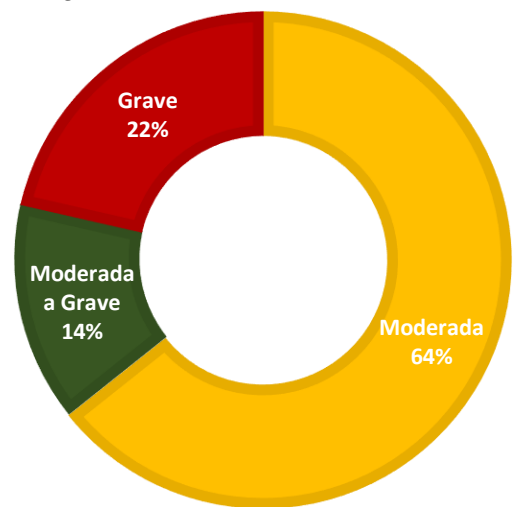
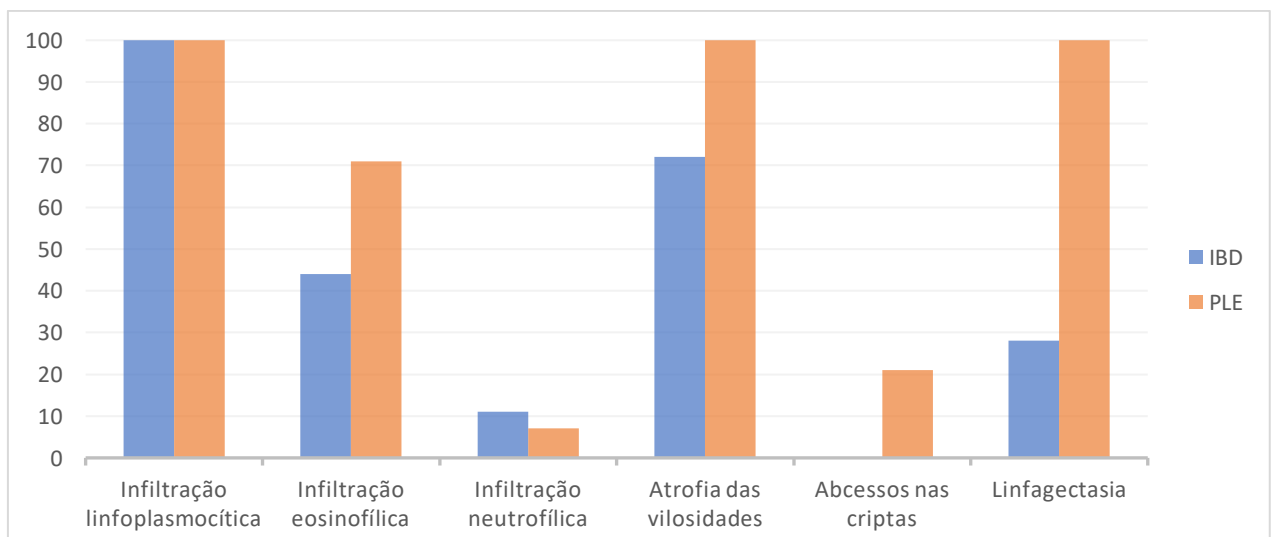


Gráfico 12. Distribuição do grupo de animais com PLE em função da gravidade histológica do cólon.



Todas as amostras provenientes do intestino demonstraram algum grau de infiltração por linfócitos, plasmócitos, eosinófilos, neutrófilos ou a combinação destes. Todos os animais com PLE, independentemente da gravidade histológica demonstraram uma atrofia das vilosidades e dilatação dos vasos linfáticos no duodeno. Foi possível observar também a presença de abscessos criptais em 3 animais e esta foi a única alteração histopatológica exclusiva deste grupo. Não possível encontrar uma correlação estatisticamente significativa entre a concentração de albumina sérica inicial nos animais com PLE e a gravidade histológica do duodeno ($r = 0,203773$, $p = 0,485$, $n = 14$).

Gráfico 9. Alterações histopatológicas observadas nas amostras provenientes do intestino de animais com IRE.



3.7. Tratamento e resposta ao tratamento

Em todos os 43 casos integrados neste estudo foi iniciada uma nova dieta terapêutica. No entanto, em apenas em 24 casos (56%) esta foi iniciada exclusivamente como primeira linha de tratamento. Em 8 casos de pacientes com IRE (7 animais com IRE não PLE e 1 com PLE) a nova dieta foi instituída, logo desde o início, em conjunto com uma terapêutica antibiótica com o metronidazol 15mg/kg PO BID.

Os restantes 11 casos eram pacientes com PLE que, pela sua condição clínica ou anorexia demonstrada, foram logo direcionados para a colheita de biópsias intestinais e uma aplicação posterior de um tratamento imunossupressor.

Dos 24 casos submetidos unicamente a uma modificação dietética, foi diagnosticada FRE em 10 casos. Dos casos FRE, em 7 (70%) animais foi administrada uma dieta hipoalergénica comercial e verificou-se que os animais entraram em remissão clínica num período médio de duas semanas. Esta dieta foi mantida em todos os animais após a resolução dos sinais clínicos e foi aconselhado aos proprietários a alimentação exclusiva com a nova dieta. Dos restantes casos FRE, 1 (10%) animal foi sujeito a uma dieta gastrointestinal comercial, tendo demonstrado apenas uma resposta parcial, com uma consistência alterada das fezes. Optou-se então por selecionar uma nova dieta com características hipoalergénicas que permitiu atingir uma remissão completa dos sinais clínicos em duas semanas. Finalmente, os restantes 2 casos FRE (20%) foram alimentados inicialmente com uma dieta caseira à base de frango com arroz e à base de pescada com batata, respetivamente. Em ambos os casos, não foi suficiente para os animais entrarem num período de remissão e, portanto, optou-se também por administrar posteriormente uma dieta comercial hipoalergénica que permitiu atingir o sucesso terapêutico numa média de duas semanas.

Dos 19 casos de IRE não PLE, em 7 (36%) optou-se por abordagem conjunta com uma dieta comercial hipoalergénica e o antibiótico metronidazol 15 mg/kg PO BID. Em 2 (11%) animais não foi possível observar qualquer resposta e 5 (26%) responderam de uma forma parcial com a presença de forma esporádica de fezes diarreicas, mas sem perda de peso num período médio de 2 meses até ao agravamento do seu estado geral com o aumento da frequência de defecação.

Em 12 (63%) casos foi adotada uma abordagem inicial exclusiva com uma dieta terapêutica. Foram recomendadas dois tipos diferentes de dietas terapêuticas comerciais e dois tipos de dietas caseiras.

Em 3 (16%) destes casos foi utilizada uma dieta gastrointestinal sendo que 1 (5%) paciente não demonstrou qualquer tipo de resposta e em 2 (11%) animais, os resultados foram bem mais promissores com um tempo médio de remissão da doença de 5 anos.

Em 2 (11%) casos foi utilizada uma dieta caseira que permitiu uma remissão dos sinais clínicos durante um período médio de 8 meses. Enquanto num destes casos, a dieta era

considerada hipoalergénica, formulada à base de arroz com carne de frango, no outro foi selecionada a carne de cavalo como uma fonte proteica que o animal ainda não teria contactado.

Finalmente, nos restantes 7 (37%) casos foi utilizada uma dieta hipoalergénica comercial. Em 4 (21%) animais foi atingida uma remissão parcial dos sinais clínicos a curto prazo, durante um período médio de 5 semanas e em 3 (16%) casos o período de remissão foi mais prolongado, com uma duração máxima de 2 anos.

No entanto, nos casos em que o tempo de remissão foi mais prolongado, a administração da dieta não era suficiente para controlar os sinais clínicos durante períodos de recaídas mais graves e, portanto, era frequentemente adicionado à terapêutica o metronidazol 15 mg/kg PO BID durante 20 a 30 dias.

O agravamento progressivo do estado geral dos animais e/ou a falta de resposta ao metronidazol levou à necessidade de encaminhar estes animais para a recolha de amostras por biópsia antes do início da administração de imunossuppressores.

Após a endoscopia, todos os animais foram medicados com um tratamento de primeira linha imunossupressor que consistia prednisona/prednisolona nas doses 0,5 mg/kg PO SID a 2 mg/kg PO SID.

Em conjunto com a terapêutica imunossupressora, 15 casos foram medicados com o metronidazol 15 mg/kg PO BID. e em 2 casos com tilosina 15 mg/kg PO BID. Em apenas 2 animais não foi utilizado qualquer tratamento antibiótico após a biópsia pois estes não tinham demonstrado qualquer resposta a este fármaco previamente.

Em 10 (53%) animais com IRE não PLE, a administração de prednisolona foi suficiente para obter uma resolução dos sinais clínicos. Foi possível obter um acompanhamento a longo prazo (superior a 20 meses) em 7 destes casos, tendo-se verificado que 3 casos se mantinham com uma dose baixa de prednisolona e os restantes tinha sido possível parar a administração de qualquer fármaco, mantendo-se apenas com uma dieta hipoalergénica.

Como segunda linha de tratamento, o imunossupressor mais frequentemente utilizado foi a ciclosporina 4 mg/kg PO SID. Em 3 (16%) animais foi possível obter uma boa resposta à terapêutica com a ciclosporina à medida que se realizava uma redução gradual de 25% da dose do corticosteroide a cada 2-4 semanas. No entanto, 2 (11%) animais apresentaram uma intolerância a este fármaco, desenvolvendo uma anorexia e letargia marcadas e, portanto, necessitaram de suprimir a sua administração e utilizar um tratamento imunossupressor alternativo.

Nestes 2 animais refratários ao tratamento com a ciclosporina, foi utilizado o micofenolato de mofetil 10 mg/kg PO BID em conjunto com a prednisolona. Num destes casos esta nova alternativa foi bem-sucedida, tendo-se realizado posteriormente a paragem gradual da corticoterapia num período total de 4 meses. No outro caso, apesar de uma forte melhoria da condição clínica, a consistência das fezes ainda se mantinha alterada. Após três meses desde

o início da terapêutica decidiu-se realizar um transplante fecal em conjunto com a administração de um agente probiótico VSL-3 SID. Para tal foi administrada, por via endoscópica, uma suspensão fezes de um animal dador saudável diluída em soro salino na dose 10 ml/kg. Apesar dos resultados a esta terapêutica alternativa terem sido inicialmente promissores com o desaparecimento completo da diarreia, o animal acabou por voltar a sofrer uma recaída após duas semanas deste procedimento. Este animal foi considerado assim como refratário ao tratamento, não tendo sido possível encontrar uma terapêutica ideal para controlar a sua situação clínica.

Em 4 (21%) animais foi administrada a azatioprina 2 mg/kg PO SID como segunda linha de tratamento em conjunto com a budesonida 3 mg/m² PO SID. A terapêutica inicial com prednisolona foi substituída pela budesonida nestes animais devido à presença de efeitos secundários pronunciados como poliúria, polidipsia e atrofia muscular. Destes 4 animais, 3 apresentaram uma boa resposta a esta combinação, tendo conseguido reduzir gradualmente a administração do corticosteroide num período médio de 4 meses. No entanto, num animal esta combinação de imunossuppressores não foi suficiente pois este continuava a apresentar fezes com uma consistência alterada e uma concentração de albumina sérica progressivamente mais baixa e, portanto, foi realizada uma nova modificação do protocolo terapêutico com a administração de clorambucilo 4 – 6 mg/m² PO SID em conjunto com a budesonida. Esta modificação permitiu atingir o sucesso terapêutico, tendo mesmo este animal conseguido parar a administração de budesonida após 5 meses de terapêutica.

No grupo de animais com PLE, 2 (14%) animais realizaram uma abordagem inicial com uma dieta exclusiva hipoalergénica comercial e em 1 (7%) animal a dieta hipoalergénica foi administrada em conjunto com o metronidazol 15 mg/kg. Todos estes animais apresentavam uma boa atitude e apetite numa fase inicial e níveis de albumina entre 1,8-1,9 g/dl. No entanto, este tipo de abordagem terapêutica não permitiu atingir resultados favoráveis uma vez que um destes casos apresentou apenas melhorias parciais à modificação dietética enquanto os restantes não demonstraram qualquer resposta e, portanto, acabaram todos por ser reencaminhados para a colheita de biópsias intestinais.

A sua fraca condição geral e estado catabólico dos restantes 11 (79%) animais com PLE exigiu que estes fossem desde logo hospitalizados com uma terapêutica mais agressiva de modo a corrigir o seu estado de hipoalbuminémia grave o mais rápido possível. Durante o período de hospitalização com uma duração máxima de 3 dias, foi administrada em todos os animais uma terapêutica intravenosa com metilprednisolona. Outras medicações de suporte como maropitant, omeprazol, sucralfato, clopidrogel também foram utilizadas conforme os sinais clínicos apresentados. Para além da terapêutica imunossupressora, em 6 (43%) animais foi realizada uma transfusão com albumina sérica humana a 5% (2 mL/kg/h durante 10 h/dia) sem o registo de quaisquer reações adversas e em 2 (14%) animais foi administrada

uma fluidoterapia de tipo cristalóide com suplementação de glucose a velocidade de mantimento.

Em 11 (79%) cães foi administrada uma dieta gastrointestinal com um conteúdo ultrabaixo em gordura enquanto nos restantes optou-se por mantê-los com uma dieta comercial com características hipoalergénicas.

Em 7 (50%) animais com PLE foi administrado o antibiótico metronidazol 15 mg/kg PO BID, em 2 (14%) foi administrada tilosina 15 mg/kg PO BID e nos restantes animais optou-se por não adicionar qualquer antibiótico à terapêutica imunossupressora após a obtenção do diagnóstico histopatológico.

Após o período de hospitalização ou insucesso terapêutico da dieta em conjunto ou não com os antibióticos, todos os animais com PLE receberam uma terapêutica imunossupressora com metilprednisolona ou prednisolona 1,5 a 2 mg/kg PO SID ou BID. Em 4 (29%) animais, em conjunto com a terapêutica corticoesteróide foi iniciado simultaneamente o clorambucilo 4mg/m² PO SID. Enquanto em 3 destes animais, esta combinação permitiu atingir o sucesso terapêutico, em 1 animal só a substituição da administração de clorambucilo por ciclosporina é que permitiu que este entrasse num período de remissão.

Dos 14 animais, 5 (36%) apresentam uma resposta positiva à terapêutica com prednisolona ou metilprednisolona. Assim que a sua situação clínica estabilizava, com um aumento de peso e normalização da concentração sérica de albumina, a dose de glucocorticóides foi reduzida gradualmente 25%, a cada 2 - 3 semanas.

Em 6 (43%) animais, foi iniciada uma terapêutica de segunda linha com a ciclosporina em conjunto com a prednisolona em 4 animais e com a budesonida em 2 animais. Apenas um animal foi refratário a esta combinação, com níveis persistentes de hipoalbuminémia e, portanto, optou-se por substituir a terapêutica com a ciclosporina por clorambucilo em conjunto com a budesonida.

Não possível encontrar uma correlação estatisticamente significativa entre a idade dos animais com IRE e o facto de estes serem refratários ao tratamento com prednisolona ($r=0.270$, $p=0.129$, $n=33$).

Nos 15 animais com IRE em que foi diagnosticada hipocobalaminémia foi administrada cianocobalamina 25 - 50 µg/kg por via subcutânea uma vez por semana durante 6 semanas, 30 dias depois uma nova administração e após um mês era reavaliada a sua concentração sérica e realizada uma nova suplementação caso fosse necessário.

Em 10 casos de IRE foi recomendado em conjunto com a terapêutica imunossupressora e antibiótica, a administração do probiótico Vivomixx[®] contendo 8 estirpes bacterianas diferentes de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e *Streptococcus*. Não foi possível avaliar o seu efeito benéfico individual ou o impacto no prognóstico destes animais.

3.8. Concentração sérica de albumina

Em todos os animais com PLE foi possível observar um aumento dos níveis séricos de albumina independentemente ou não da administração hospitalar de coloides.

O teste dos postos sinalizados de Wilcoxon permitiu concluir que a diferença entre os valores medidos na altura do diagnóstico (T0) e após 1 mês de tratamento (T1) era estatisticamente significativa ($p=0,001$).

O teste de Mann-Whitney permitiu aferir que a diferença observada entre os valores medidos em T0 e T1 era independente da aplicação de uma terapêutica inicial com coloides ($p=0,605$).

Foi possível encontrar uma correlação negativa estatisticamente significativa entre a concentração sérica de albumina inicial nos animais com PLE e o facto de estes serem refratários ao tratamento com prednisolona ($r= -0,543$, $p = 0.045$, $n = 14$).

Gráfico 14. Concentração sérica de albumina em T0 e T1 nos animais com PLE sujeitos a um tratamento imunossupressor em conjunto com a transfusão inicial de coloides.

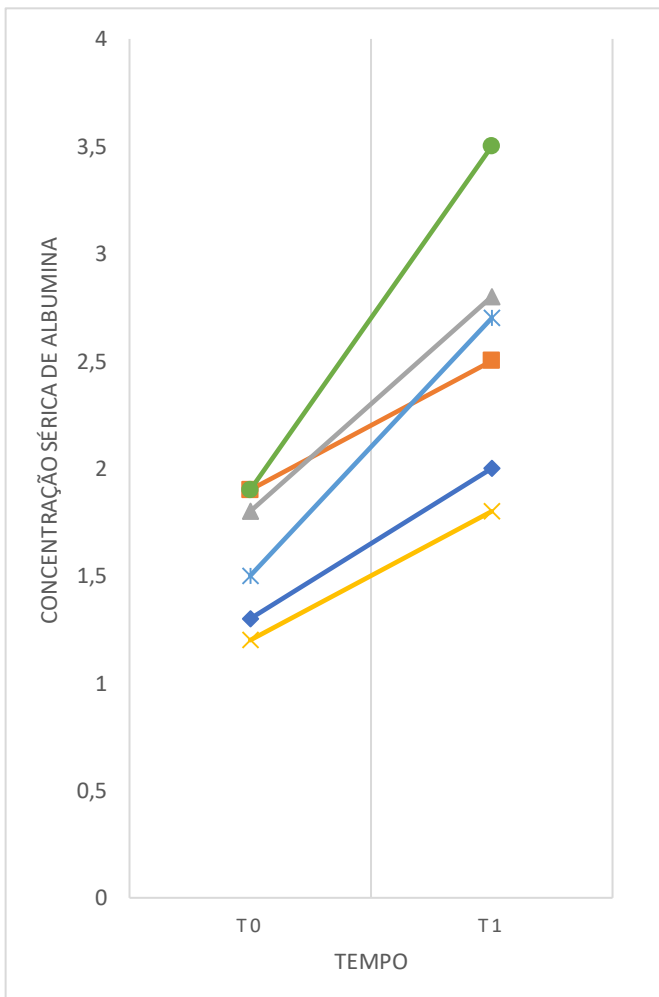
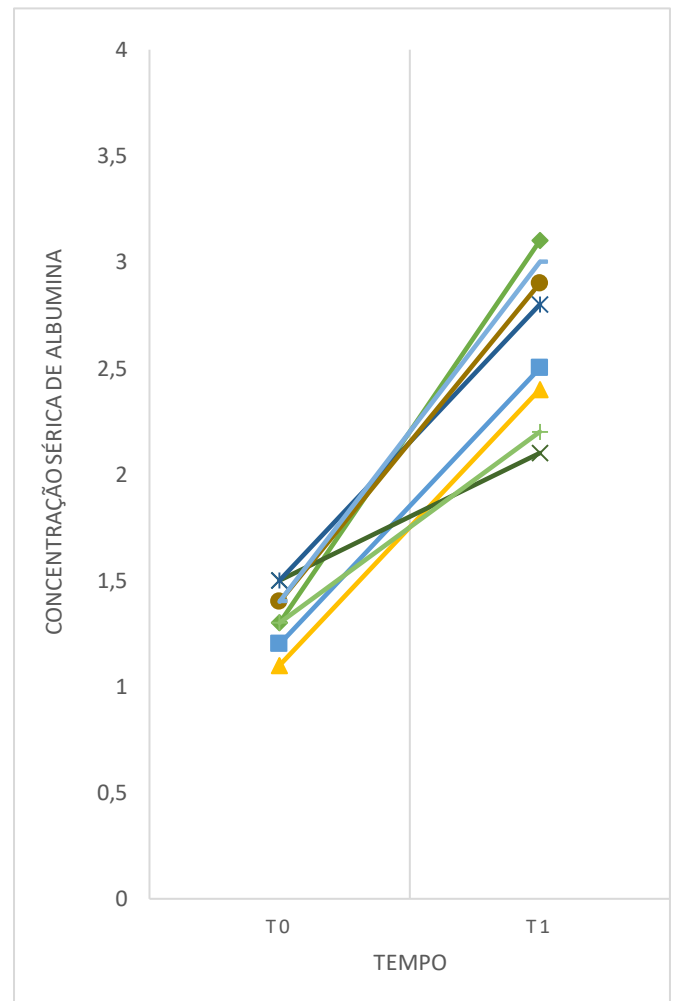


Gráfico 15. Concentração sérica de albumina em T0 e T1 nos animais com PLE sujeitos a um tratamento imunossupressor.



4. Discussão

A comparação estatística entre as idades médias na altura do diagnóstico dos cães incluídos neste estudo retrospectivo não permitiu encontrar diferenças significativas na distribuição etária entre os vários tipos de CE. Tal significa que, nesta amostra canina, a idade ao diagnóstico não poderia ser usada como um indicador para prever a resposta ao tratamento e para obter um diagnóstico definitivo. Este facto está provavelmente ligado à dispersão dos valores etários ao diagnóstico observada entre os grupos. No entanto, os animais FRE eram mais jovens (idade mediana de 4 anos) que os animais que foram diagnosticados com IRE o que está de acordo com estudos prévios (Allenspach et al., 2007, 2016; Craven et al., 2004; Volkmann et al., 2017).

A apresentação clínica dos vários tipos de CE não revelou desvios significativos em relação ao que está descrito por outros estudos (Allenspach et al., 2007, 2016; Craven et al., 2004; Volkmann et al., 2017), sendo que diarreia crónica foi o sinal clínico predominante entre todos grupos de animais. No entanto, apesar de Allenspach et al. (2007) terem descrito que os casos FRE apresentavam frequentemente sinais característicos de envolvimento do intestino grosso, tal só possível observar em apenas dois casos. Tal acontecimento poderá ser justificado pelo reduzido tamanho da amostra populacional incluída neste estudo.

No grupo de animais com PLE, a presença de distensão abdominal ocorreu em animais com uma concentração de albumina séria inferior a 1,5 g/dL. No entanto, em dois animais com níveis de hipoalbuminemia graves (1,3 g/dL), não foi possível observar este sinal durante o exame clínico. Assim, apesar da presença deste sinal poder ser utilizada como uma forma de orientar o diagnóstico, é importante ter sempre em conta todo o quadro clínico e os resultados dos exames de diagnóstico complementares antes de instituir uma terapêutica inadequada.

Dos três subgrupos de CE, foram os animais com PLE que apresentaram um intervalo de duração de tempo inferior até à obtenção de um diagnóstico definitivo. Tal pode ser justificado pela abordagem terapêutica realizada nestes casos, sendo que em 79% casos de PLE a sua condição mais debilitada exigiu que fosse realizada a sua hospitalização imediata com a administração de uma terapêutica endovenosa de forma a obter um diagnóstico definitivo o mais rápido possível. A dispersão encontrada nos casos de IRE não PLE para este parâmetro foi bastante superior, com um intervalo de tempo mínimo de 1 mês e máximo de 2 anos, uma vez que o diagnóstico definitivo nestes animais estava sempre dependente da resposta à modificação dietética e/ou administração de antibióticos.

Apenas 47% dos animais do grupo com IRE não PLE apresentou alterações dignas de registo nas suas análises laboratoriais. No entanto, estas eram pouco específicas e não permitiam avaliar o nível de progressão ou a gravidade da doença. Neste grupo, não foi identificada hipoalbuminemia em nenhum cão, mas cinco animais apresentavam a concentração de albumina sérica no limite inferior, entre 2.2 e 2.3 g/dL. Apesar de não ter sido medido a

concentração de α 1-PI, é bastante provável que estes animais também apresentem algum grau de perda intestinal de proteína, uma vez que não existiam alterações no rácio urinário proteína/creatinina e foram excluídas doenças hepáticas. Já nos animais com PLE foi possível observar uma panhipoproteinemia em 79% dos casos explicada por alterações graves como a atrofia das vilosidades intestinais e linfangiectasia intestinal primária ou secundária a um processo inflamatório da mucosa intestinal que permitem a saída de albumina e globulinas (Gaschen, 2013).

Apesar de ter sido detetada em 50% dos casos de PLE uma trombocitose associada, em nenhum destes animais foi realizado um painel de coagulação de forma a avaliar o estado de hipercoagulabilidade. No entanto, em todos estes animais foi administrado o clopidogrel 2 mg/kg PO SID de forma profilática.

Os resultados combinados das concentrações de cobalamina e folato séricas diminuídas encontrados poderão indicar danos na mucosa e absorção distal (íleo) e intestino delgado proximal, respetivamente. Em todos os animais com hipocobalaminemia foi realizada a sua suplementação por via subcutânea. Apesar de não ter sido possível avaliar de que forma é que esta suplementação influenciou o prognóstico e a resposta ao tratamento, foi possível observar que apenas um animal com hipocobalaminemia inicial respondeu ao tratamento inicial com a prednisolona, sendo que o 14 restantes necessitaram da administração de fármacos imunossupressores adicionais.

A ecografia da cavidade abdominal revelou-se uma ferramenta útil na maioria dos casos para avaliar o envolvimento de doença gastrointestinal e exclusão de causas extras intestinais, com anormalidades relatadas em 74% dos casos de IRE não PLE e em todos os animais com PLE observados. Mais uma vez, os animais do grupo FRE foram os que apresentaram um menor número de alterações, o que está de acordo com estudos realizados previamente (Gaschen, 2011; Gaschen et al., 2008; Leib et al., 2012; Mapletoft et al., 2018; Penninck et al., 2003).

A realização de uma gastroduodenoscopia e/ou colonoscopia e respetiva avaliação histopatológica das amostras não foi indicada como diagnóstico de primeira linha para todos os animais. A decisão de utilizar este meio de diagnóstico mais invasivo estava sempre dependente da gravidade do quadro clínico, risco para o paciente, resposta à administração prévia de uma terapêutica dietética e/ou antibiótica. Se a situação clínica do animal era relativamente estável e este mantinha um bom apetite, então era normalmente realçado junto com os proprietários a necessidade de administrar exclusivamente uma dieta de eliminação antes de considerar o uso de antibióticos ou glucocorticoides, de forma a poder detetar eficazmente os casos de FRE. Uma das principais dificuldades encontradas durante a seleção da amostra de casos foi precisamente esta dificuldade em elucidar os proprietários sobre o papel fulcral da dieta como terapêutica exclusiva nestes animais numa fase inicial e a importância de seguir um plano rigoroso durante um período mínimo de 2 semanas.

O exame endoscópico mostrou alterações macroscópicas em todos os animais com IRE incluídos neste estudo, sendo que o grau dessas lesões foi classificado como grave em 65% dos casos. Num estudo por Allenspach et al. (2007), a presença de lesões graves na mucosa do duodeno estava correlacionada com um prognóstico negativo. No entanto, neste estudo retrospectivo não foi possível observar uma relação clara entre as alterações endoscópicas, histopatológicas e o quadro clínico apresentado pelos animais.

Este estudo poderia ter sido melhorado se a classificação histopatológica tivesse sido efetuada por um único patologista, uma vez que uma variação significativa entre observadores já foi descrita em vários estudos (Casamian-Sorrosal et al., 2010; Jergens et al., 2014; Washabau et al., 2010; Willard & Mansell, 2011).

A LPE foi a manifestação histopatológica mais comum em todos os casos de IRE, resultados que estão de acordo com o descrito anteriormente por diversos autores (Day et al., 2008; Hall et al., 2017; Washabau et al., 2010; Wennogle et al., 2017). Foi também detetada uma infiltração eosinofílica em 70% dos animais com IRE não PLE, sendo que grande parte destes animais também apresentava úlceras na mucosa e hematoquécia associada como descrito por Hall et al. (2017). Animais com PLE apresentavam frequentemente um grau histopatológico superior, especialmente nas amostras provenientes do duodeno, o que estava de acordo com a imagem endoscópica obtida assim como a gravidade dos sinais clínicos demonstrada por estes animais. Apesar de todos estes animais terem demonstrado algum grau de linfangiectasia, a histopatologia não permitia distinguir de uma forma clara se esta era resultante de um processo primário ou secundário a uma infiltração inflamatória grave. No entanto, 5 destes 14 animais com PLE eram Yorkshire Terrier, uma raça altamente predisposta a linfangiectasia primária. A presença de abscessos criptais em 3 animais com PLE surgiu associada a uma classificação histopatológica grave e linfangiectasia marcadas, sugerindo uma possível translocação bacteriana provocada pela destruição da barreira intestinal. Apesar de em nenhum destes animais ter sido utilizado o método FISH de forma a confirmar o componente bacteriano da doença (Hall et al., 2017), foi sempre administrada uma terapêutica profilática antibacteriana com o metronidazol ou a tilosina.

Nos 10 animais diagnosticados com FRE, o tratamento com uma dieta comercial com características hipoalergénicas apresentou uma maior taxa de sucesso, permitindo a resolução dos sinais clínicos em todos os animais incluídos neste grupo num período médio de 2 semanas, o que está de acordo com estudos anteriores (Allenspach et al., 2016; Craven et al., 2004; Gaschen & Merchant, 2011; Guilford & Matz, 2003; Luckschander et al., 2006; Schreiner et al., 2008).

Apesar de vários autores como Allenspach et al. (2007), Luckschander et al. (2006), Schreiner, Gaschen, Gröne, Sauter, & Allenspach (2008), já terem demonstrado que a classificação histopatológica não permite diferenciar os casos de FRE das restantes CE, a natureza retrospectiva deste estudo também não permitiu a obtenção um diagnóstico

histopatológico para os casos FRE, comprovando assim a presença de infiltração por células inflamatórias na mucosa intestinal.

A administração exclusiva com antibióticos de modo a excluir ARE não foi adotada como uma medida padrão na abordagem clínica dos casos de IRE incluídos neste estudo. Isto deve-se em parte devido à crescente preocupação em torno da administração repetida de antibióticos e à controvérsia sobre o verdadeiro significado da existência da ARE enquanto entidade clínica. Apesar disso, era frequentemente acrescentado à terapêutica imunossupressora destes animais, o metronidazol ou a tilosina que se estima que apresentem também um efeito imunomodulador. Não foi possível avaliar qual o verdadeiro impacto destes fármacos na saúde dos animais e de que forma é que a sua administração poderá ter influenciado a resposta ao tratamento imunossupressor.

O tratamento farmacológico nos casos de IRE teve como principal objetivo manter os animais livres de sinais clínicos durante o máximo tempo possível, sempre procurando encontrar a dose mínima eficaz e utilizando o menor número possível de fármacos imunossupressores. Ainda que tinha sido observada uma resolução dos sinais clínicos na grande maioria dos animais, é importante ter em conta que, devido à natureza retrospectiva deste estudo, a duração do acompanhamento disponível foi variável entre os vários animais e não permitiu, portanto, uma avaliação precisa da taxa de recaídas a longo prazo. Importante também referir que em nenhum dos casos foi realizada uma repetição das biópsias intestinais durante o período de remissão da doença, sendo por isso possível que a resolução dos sinais clínicos não tenha sido acompanhada por uma resolução histológica da inflamação intestinal.

Em mais de metade dos animais com IRE não PLE, a administração de prednisolona foi suficiente para obter uma resolução dos sinais clínicos, o que está de acordo com estudos anteriores (Allenspach et al., 2016; Craven et al., 2004; Hall et al., 2017; Volkmann et al., 2017). Associados a um baixo custo, estes resultados apoiam a escolha deste fármaco pela maioria dos clínicos como uma primeira linha de tratamento relativamente eficaz.

Foi possível observar reações de intolerância à ciclosporina em 2 dos 5 animais em que esta foi usada como segunda linha de tratamento. Esta situação também já tinha sido descrita no estudo Allenspach et al. (2006), reforçando a importância da realização de uma monitorização cuidadosa destes animais.

A terapêutica alternativa com um TMF num dos casos de IRE refratária à prednisolona, ciclosporina e micofenolato de mofetil, revelou resultados pouco satisfatórios. Apesar dos estudos relativamente a este tipo de terapêutica serem ainda escassos e a maioria dos autores reservar o seu uso para situações refratárias, é necessário ter em conta que o insucesso com os vários fármacos imunossupressores e longo período de atuação desde o surgimento dos sinais clínicos até à decisão de administrar este terapêutica alternativa levou a uma progressiva deterioração da situação clínica do animal, com diarreia, vômito, hiporexia

e prostração marcadas, o que certamente terá influenciado a capacidade de resposta ao tratamento deste animal.

Ainda que alguns autores como Rudinsky et al. (2017) relatem taxas de sucesso para a administração exclusiva com uma dieta adequada nos animais com PLE clinicamente estáveis e com bom apetite, tal não foi possível verificar neste estudo. Tal poderá ter ocorrido por um período de teste com a alimentação exclusivo com a dieta insuficiente para observar uma resposta, uma falta de rigor no seguimento do plano dietético ou simplesmente pelo facto de ter sido incluída uma reduzida amostra de casos neste estudo.

A grande maioria dos pacientes com PLE apresentaram-se à consulta num estado mais debilitado, com níveis de albumina baixos, sendo que 29% dos casos necessitaram desde logo um tratamento mais intensivo com a administração um fármaco imunossupressor adicional de forma a recuperar rapidamente a pressão oncótica coloidal. Nestes animais, a taxa de resposta à administração de prednisolona também foi bastante inferior à observada nos animais com IRE não PLE, sendo que a gravidade da hipoalbuminémia estava correlacionada com uma falta de resposta a este fármaco. Foi também possível observar um aumento dos níveis séricos de albumina após um mês de tratamento em conjunto com a resolução dos sinais clínicos em todos os animais com PLE. Apesar de não ter sido possível um acompanhamento a longo prazo de todos os casos de PLE incluídos neste estudo, estes resultados sugerem a entrada num período de remissão e um bom prognóstico para estes animais.

Uma das principais limitações deste estudo foi, sem dúvida, a sua natureza retrospectiva e falta de potência estatística derivada de uma reduzida amostra de casos incluídos nos subgrupos de CE estudados, um facto que poderá ter influenciado a ausência de uma correlação estatisticamente significativa encontrada para vários parâmetros. Também é necessário ter em conta que o grupo de animais incluídos neste estudo era bastante heterogéneo, com grandes variações na idade, raça assim com no ambiente em que os animais estavam inseridos. A natureza retrospectiva deste estudo envolveu também que fosse executada a recolha dos dados e histórica clínica a partir das notas realizadas por diferentes clínicos, o que pode ter levado a importantes erros como a perda ou omissão de informação relevante ou uma avaliação subjetiva da gravidade da sintomatologia clínica ou da resposta ao tratamento demonstrada pelos diferentes animais.

Este estudo poderia também ter sido melhorado se tivesse sido realizada uma medição do CCECAI em todos os casos. No entanto, tal não foi possível pois as informações disponíveis da história clínica dos animais para parâmetros como o prurido e ascite não correspondiam aos critérios definidos pelo CCECAI. Para além disso, a informação de acompanhamento dos casos foi limitada em alguns cães por uma variedade de razões, incluindo o desenho do estudo retrospectivo e a diversidade na aquisição de dados por diferentes clínicos durante o acompanhamento.

5. Conclusão

A presença de sinais gastrointestinais crônicos é uma preocupação diária e motivo de consulta frequente durante a prática clínica. Apesar das doenças gastrointestinais crônicas como a CE serem alvo de uma intensa área de pesquisa nos últimos anos, ainda não foi possível esclarecer completamente a patogênese desta doença e qual o impacto dos fatores ambientais sobre as interações existentes entre a microbioma intestinal, sistema imunitário e a genética do hospedeiro.

Ainda não existem também exames laboratoriais ou marcadores biológicos fidedignos que permitam avaliar a gravidade e progressão da doença ou orientar adequadamente o tratamento.

Todos os cães com inflamação crônica do intestino delgado têm capacidade de absorção limitada e, portanto, é de extrema importância alimentá-los com uma dieta altamente biodisponível de forma a melhorar o estado metabólico e parar o catabolismo em curso. O reconhecimento de antigénios da dieta e desencadeamento de uma resposta imunitária inadequada parece desempenhar um papel importante nestes animais e, portanto, a administração de uma dieta com características hipoalergénicas ou então constituída por antigénios que o animal ainda não tenha entrado em contacto deve ser considerada um dos pilares do tratamento da CE, independentemente da necessidade de administração de antibióticos e/ou fármacos imunossupressores. O objetivo do tratamento dos vários subtipos de CE deverá ser sempre o sucesso terapêutico a longo prazo, procurando encontrar a dose mínima eficaz para cada fármaco se não for possível parar a sua administração sem a ocorrência de fortes recaídas.

Embora em alguns animais o uso de antimicrobianos seja útil, o seu uso pode exacerbar a disbiose em outras doenças gastrointestinais que não respondem aos antibióticos. Portanto, mais estudos clínicos são necessários de forma a esclarecer qual será a melhor terapêutica a adotar na abordagem clínica à disbiose do microbioma intestinal presente nos animais com CE.

Assim, são ainda necessários mais estudos clínicos devidamente controlados de forma a aumentar a capacidade de desenvolver estratégias terapêuticas racionais e que permitam, num futuro próximo, identificar os animais suscetíveis dentro da população canina prevenindo a ocorrência da doença em primeiro lugar.

Bibliografia

- Allenspach, K., Bergman, P. J., Sauter, S., Gröne, A., Doherr, M. G., & Gaschen, F. (2006). P-glycoprotein Expression in Lamina Propria Lymphocytes of Duodenal Biopsy Samples in Dogs with Chronic Idiopathic Enteropathies. *Journal of Comparative Pathology*, 134(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2005.06.003>
- Allenspach, K., Culverwell, C., & Chan, D. (2016). Long-term outcome in dogs with chronic enteropathies: 203 cases. *The Veterinary Record*, 178(15), 368. <https://doi.org/10.1136/vr.103557>
- Allenspach, K., House, A., Smith, K., McNeill, F. M., Hendricks, A., Elson-Riggins, J., Suchodolski, J. S. (2010). Evaluation of mucosal bacteria and histopathology, clinical disease activity and expression of Toll-like receptors in German shepherd dogs with chronic enteropathies. *Veterinary Microbiology*, 146(3–4), 326–335. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.05.025>
- Allenspach, K., Luckschander, N., Styner, M., Seibold, F., Doherr, M., Aeschbach, D., & Gaschen, F. (2004). Evaluation of assays for perinuclear antineutrophilic cytoplasmic antibodies and antibodies to *Saccharomyces cerevisiae* in dogs with inflammatory bowel disease. *American Journal of Veterinary Research*, 65(9), 1279–1283. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2004.65.1279>
- Allenspach, K., Rizzo, J., Jergens, A. E., & Chang, Y. M. (2017). Hypovitaminosis D is associated with negative outcome in dogs with protein losing enteropathy: a retrospective study of 43 cases. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 96. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1022-7>
- Allenspach, K., Rüfenacht, S., Sauter, S., Gröne, A., Steffan, J., Strehlau, G., & Gaschen, F. (2006). Pharmacokinetics and clinical efficacy of cyclosporine treatment of dogs with steroid-refractory inflammatory bowel disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(2), 239–244. [http://dx.doi.org/10.1892/0891-6640\(2006\)20\[239:PACEOC\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1892/0891-6640(2006)20[239:PACEOC]2.0.CO;2)
- Allenspach, K., Wieland, B., Gröne, A., & Gaschen, F. (2007). Chronic Enteropathies in Dogs: Evaluation of Risk Factors for Negative Outcome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(4), 700–708. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb03011.x>
- AlShawaqfeh, M., Wajid, B., Minamoto, Y., Markel, M., Lidbury, J., Steiner, J., Suchodolski, J. (2017). A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(11). <https://doi.org/10.1093/femsec/fix136>
- Arend, W. P. (2002). The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 13(4–5), 323–340. [https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(02\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(02)00020-5)
- Arpaia, N., Campbell, C., Fan, X., Dikiy, S., van der Veeken, J., deRoos, P., Rudensky, A. Y. (2013). Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*, 504(7480), 451–455. <https://doi.org/10.1038/nature12726>
- Bacha, W. (2016). *Color atlas of veterinary histology*. (3th edition). U.K: John Wiley & Sons.
- Bansal, T., Alaniz, R. C., Wood, T. K., & Jayaraman, A. (2010). The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(1), 228–233. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906112107>

- Barry, K. A., Hernot, D. C., Middelbos, I. S., Francis, C., Dunsford, B., Swanson, K. S., & Fahey, G. C. (2009). Low-level fructan supplementation of dogs enhances nutrient digestion and modifies stool metabolite concentrations, but does not alter fecal microbiota populations. *Journal of Animal Science*, *87*(10), 3244–3252. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1659>
- Belkaid, Y., & Hand, T. W. (2014). Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. *Cell*, *157*(1), 121–141. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>
- Berghoff, N., & Steiner, J. M. (2011). Laboratory Tests for the Diagnosis and Management of Chronic Canine and Feline Enteropathies. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, *41*(2), 311–328. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.01.001>
- Burgener, I. A., König, A., Allenspach, K., Sauter, S. N., Boisclair, J., Doherr, M. G., & Jungi, T. W. (2008). Upregulation of Toll-Like Receptors in Chronic Enteropathies in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *22*(3), 553–560. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0093.x>
- Budras, K. D. (2007). *Anatomy of the dog*. (5th edition). Germany: Schlütersche
- Carrasco, V., Rodríguez-Bertos, A., Rodríguez-Franco, F., Wise, A. G., Maes, R., Mullaney, T., & Kiupel, M. (2015). Distinguishing Intestinal Lymphoma From Inflammatory Bowel Disease in Canine Duodenal Endoscopic Biopsy Samples. *Veterinary Pathology*, *52*(4), 668–675. <https://doi.org/10.1177/0300985814559398>
- Caruso, R., Warner, N., Inohara, N., & Núñez, G. (2014). NOD1 and NOD2: Signaling, Host Defense, and Inflammatory Disease. *Immunity*, *41*(6), 898–908. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.12.010>
- Casamian-Sorrosal, D., Willard, M. D., Murray, J. K., Hall, E. J., Taylor, S. S., & Day, M. J. (2010). Comparison of Histopathologic Findings in Biopsies from the Duodenum and Ileum of Dogs with Enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *24*(1), 80–83. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0427.x>
- Cave, N. J., Marks, S. L., Kass, P. H., Melli, A. C., & Brophy, M. A. (2002). Evaluation of a routine diagnostic fecal panel for dogs with diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *221*(1), 52–59. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.221.52>
- Cave N, Guilford W. (2004). A method for in vitro evaluation of protein hydrolysates for potential inclusion in veterinary diets. *Res Vet Sci*. *77*(3):231-8. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2004.04.011>
- Chaitman, J., Guard, B., Sarwar, F., Lidbury, J., Steiner, J., & Suchodolski, J. (2017). Fecal Microbial Transplantation Decreases the Dysbiosis Index in Dogs Presenting with Chronic Diarrhea, *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2017*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=8012128>
- Chan, D. (2013). Nutritional Aspects of Canine PLE: The Criticalist Perspective. *Proceedings from American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2013*. In *VIN.com*. Disponível em: www.vin.com/doc/?id=6700011
- Craft, E. M., & Powell, L. L. (2012). The use of canine-specific albumin in dogs with septic peritonitis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, *22*(6), 631–639. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2012.00819.x>

- Craven, M., Dogan, B., Schukken, A., Volkman, M., Chandler, A., McDonough, P. L., & Simpson, K. W. (2010). Antimicrobial Resistance Impacts Clinical Outcome of Granulomatous Colitis in Boxer Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(4), 819–824. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0527.x>
- Craven, M., Duhamel, G., Sutter, N., & Simpson, K. (2009). Absence of a bacterial association in yorkshire terriers with protein-losing enteropathy and cystic intestinal crypts. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23: 757.
- Craven, M., Simpson, J. W., Ridyard, A. E., & Chandler, M. L. (2004). Canine inflammatory bowel disease: retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995-2002). *Journal of Small Animal Practice*, 45(7), 336–342. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2004.tb00245.x>
- D'Angelo, S., Fracassi, F., Bresciani, F., Galuppi, R., Diana, A., Linta, N., Pietra, M. (2018). Effect of *Saccharomyces boulardii* in dogs with chronic enteropathies: double-blinded, placebo-controlled study. *Veterinary Record*, 182(9), 258–258. <https://doi.org/10.1136/vr.104241>
- Dandrieux, J. (2016). Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same? *Journal of Small Animal Practice*, 57(11), 589–599. <https://doi.org/10.1111/jsap.12588>
- Dandrieux, J., Noble, P., Scase, T., Cripps, P., & German, A. (2013). Comparison of a chlorambucil-prednisolone combination with an azathioprine-prednisolone combination for treatment of chronic enteropathy with concurrent protein-losing enteropathy in dogs: 27 cases (2007–2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 242(12), 1705–1714. <https://doi.org/10.2460/javma.242.12.1705>
- Day, M. J., Bilzer, T., Mansell, J., Wilcock, B., Hall, E. J., Jergens, A., World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. (2008). Histopathological Standards for the Diagnosis of Gastrointestinal Inflammation in Endoscopic Biopsy Samples from the Dog and Cat: A Report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. *Journal of Comparative Pathology*, 138, S1–S43. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2008.01.001>
- de Godoy, M. R. C., Kerr, K. R., Fahey, G. C., & Jr. (2013). Alternative dietary fiber sources in companion animal nutrition. *Nutrients*, 5(8), 3099–3117. <https://doi.org/10.3390/nu5083099>
- Dossin, O., & Lavoué, R. (2011). Protein-Losing Enteropathies in Dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 41(2), 399–418. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.02.002>
- Dryden, M. W., Payne, P. A., Ridley, R., & Smith, V. (2005). Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine*, 6(1), 15–28.
- Dryden, M. W., Payne, P. A., & Smith, V. (2006). Accurate diagnosis of *Giardia* spp and proper fecal examination procedures. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine*, 7(1), 4–14.
- Duboc, H., Rajca, S., Rainteau, D., Benarous, D., Maubert, M.-A., Quervain, E., Seksik, P. (2013). Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. *Gut*, 62(4), 531–539. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302578>

- Dyce, K. M., Sack, W. O. & Wensing, C. J. G. (2017). *Textbook of veterinary anatomy*. (5th edition). Saunders/Elsevier.
- Dye, T. L., Diehl, K. J., Wheeler, S. L., & Westfall, D. S. (2013). Randomized, Controlled Trial of Budesonide and Prednisone for the Treatment of Idiopathic Inflammatory Bowel Disease in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(6), 1385–1391. <https://doi.org/10.1111/jvim.12195>
- Equilino, M., Théodoloz, V., Gorgas, D., Doherr, M. G., Heilmann, R. M., Suchodolski, J. S., Burgener DVM, I. A. (2015). Evaluation of serum biochemical marker concentrations and survival time in dogs with protein-losing enteropathy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 246(1), 91–99. <https://doi.org/10.2460/javma.246.1.91>
- FAO/WHO (2002) Working group for drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2pdf> 2002.
- Fenimore, A., Martin, L., & Lappin, M. R. (2017). Evaluation of Metronidazole With and Without Enterococcus Faecium SF68 in Shelter Dogs With Diarrhea. *Topics in Companion Animal Medicine*, 32(3), 100–103. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2017.11.001>
- Florey, J., Viall, A., Streu, S., DiMuro, V., Riddle, A., Kirk, J., Allenspach, K. (2017). Use of a Granulocyte Immunofluorescence Assay Designed for Humans for Detection of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies in Dogs with Chronic Enteropathies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(4), 1062–1066. <https://doi.org/10.1111/jvim.14774>
- Forman, M. A. (2016). IBD: Diagnosis and Management, *Proceedings from American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2016*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=7346491>
- Forsythe, P., & Paterson, S. (2014). Ciclosporin 10 years on: indications and efficacy. *Veterinary Record*, 174(Suppl 2), 13–21. <https://doi.org/10.1136/vr.102484>
- Fric, J., Zelante, T., Wong, A. Y. W., Mertes, A., Yu, H.-B., & Ricciardi-Castagnoli, P. (2012). NFAT control of innate immunity. *Blood*, 120(7), 1380–1389. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-02-404475>
- Gallo, A., Passaro, G., Gasbarrini, A., Landolfi, R., & Montalto, M. (2016). Modulation of microbiota as treatment for intestinal inflammatory disorders: An update. *World Journal of Gastroenterology*, 22(32), 7186. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i32.7186>
- Garcia-Mazcorro, J. F., Barcenas-Walls, J. R., Suchodolski, J. S., & Steiner, J. M. (2017). Molecular assessment of the fecal microbiota in healthy cats and dogs before and during supplementation with fructo-oligosaccharides (FOS) and inulin using high-throughput 454-pyrosequencing. *PeerJ*, 5, e3184. <https://doi.org/10.7717/peerj.3184>
- Garcia-Mazcorro, J. F., Lanerie, D. J., Dowd, S. E., Paddock, C. G., Grützner, N., Steiner, J. M., Suchodolski, J. S. (2011). Effect of a multi-species synbiotic formulation on fecal bacterial microbiota of healthy cats and dogs as evaluated by pyrosequencing. *FEMS Microbiology Ecology*, 78(3), 542–554. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01185.x>
- García-Sancho, M., Rodríguez-Franco, F., Sainz, A., Mancho, C., & Rodríguez, A. (2007). Evaluation of clinical, macroscopic, and histopathologic response to treatment in nonhypoproteinemic dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(1), 11–17. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb02922.x>

- García-Sancho, M., Sáinz, Á.G., Villaescusa, A., Rodríguez, A.F., & Rodríguez-Franco, F. (2011). White spots on the mucosal surface of the duodenum in dogs with lymphocytic plasmacytic enteritis. *Journal of veterinary science*.
- Gaschen, F. (2011). Chronic Canine Enteropathies: Diet-, Antibiotic-, or Steroid-Responsive?, *Proceedings from Western Veterinary Conference 2011*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=6698308>
- Gaschen, F. (2013). *Protein-losing enteropathy in dogs-the beginning of the end?* Disponível em: http://www.bli.uci.edu/conti2013/Gaschen_text.pdf
- Gaschen, F. P., & Merchant, S. R. (2011). Adverse Food Reactions in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 41(2), 361–379. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.02.005>
- Gaschen, L. (2011). Ultrasonography of Small Intestinal Inflammatory and Neoplastic Diseases in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 41(2), 329–344. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.01.002>
- Gaschen, L., Granger, L. A., Oubre, O., Shannon, D., Kearney, M., & Gaschen, F. (2016). The effects of food intake and its fat composition on intestinal echogenicity in healthy dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 57(5), 546–550. <https://doi.org/10.1111/vru.12384>
- Gaschen, L., Kircher, P., Stüssi, A., Allenspach, K., Gaschen, F., Doherr, M., & Gröne, A. (2008). Comparison of ultrasonographic findings with clinical activity index (CIBDAI) and diagnosis in dogs with chronic enteropathies. *Veterinary Radiology & Ultrasound: The Official Journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*, 49(1), 56–64.
- Gerbec, Z. (2016). *Evaluation of therapeutic potential of restoring gastrointestinal homeostasis by a fecal microbiota transplant in dogs*. Master Thesis. Ljubljana: University of Ljubljana.
- German, A. J., Day, M. J., Ruaux, C. G., Steiner, J. M., Williams, D. A., & Hall, E. J. (2003). Comparison of Direct and Indirect Tests for Small Intestinal Bacterial Overgrowth and Antibiotic-Responsive Diarrhea in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(1), 33–43. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb01321.x>
- German, A. J., Hall, E. J., & Day, M. J. (2003). Chronic Intestinal Inflammation and Intestinal Disease in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(1), 8–20. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb01318.x>
- German, A. J., Helps, C. R., Hall, E. J., & Day, M. J. (2000). Cytokine mRNA expression in mucosal biopsies from German shepherd dogs with small intestinal enteropathies. *Digestive Diseases and Sciences*, 45(1), 7–17.
- Gianella, P., Lotti, U., Bellino, C., Bresciani, F., Cagnasso, A., Fracassi, F., Pietra, M. (2017). Clinicopathologic and prognostic factors in short- and long-term surviving dogs with protein-losing enteropathy. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*, 159(3), 163–169. <https://doi.org/10.17236/sat00108>
- Goodwin, L. V., Goggs, R., Allenspach, K., & Chan, D. L. (2010). Evaluation of Hypercoagulability Using Thromboelastography (TEG®) in Dogs with Protein Losing Enteropathy, *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2010*. In *VIN.com*. Retrieved from <https://www.vin.com/doc/?id=6697999>

- Goodwin, L. V., Goggs, R., Chan, D. L., & Allenspach, K. (2011). Hypercoagulability in Dogs with Protein-Losing Enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(2), 273–277. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0683.x>
- Grellet, A., Heilmann, R. M., Lecoindre, P., Feugier, A., Day, M. J., Peeters, D., ... Steiner, J. M. (2013). Fecal calprotectin concentrations in adult dogs with chronic diarrhea. *American Journal of Veterinary Research*, 74(5), 706–711. <https://doi.org/10.2460/ajvr.74.5.706>
- Guaguere, E., Steffan, J., & Olivry, T. (2004). Cyclosporin A: a new drug in the field of canine dermatology. *Veterinary Dermatology*, 15(2), 61–74. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2004.00376.x>
- Guilford WG. Adverse reactions to food. In: Guilford WG, Center S.A., Strombeck DR, Williams DA, Meyer DJ. (1996). *Strombeck's Small Animal Gastroenterology*. Philadelphia: W.B. Saunders
- Guilford, W., & Matz, M. (2003). The nutritional management of gastrointestinal tract disorders in companion animals. *New Zealand Veterinary Journal*, 51(6), 284–291. <https://doi.org/10.1080/00480169.2003.36382>
- Haas, E., Rütgen, B. C., Gerner, W., Richter, B., Tichy, A., Galler, A., Luckschander-Zeller, N. (2014). Phenotypic Characterization of Canine Intestinal Intraepithelial Lymphocytes in Dogs with Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(6), 1708–1715. <https://doi.org/10.1111/jvim.12456>
- Hall, E., Day M. (2017). *Diseases of the Small Intestine*. In: Ettinger, J., J., S., Feldman, E., & Côté, E. *Textbook of veterinary internal medicine : diseases of the dog and the cat*. (8th edition). St. Louis (MO): Elsevier, Ed.
- Hall, E. (2011). Antibiotic-Responsive Diarrhea in Small Animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 41(2), 273–286. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.12.004>
- Handl, S., Dowd, S. E., Garcia-Mazcorro, J. F., Steiner, J. M., & Suchodolski, J. S. (2011). Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. *FEMS Microbiology Ecology*, 76(2), 301–310. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01058.x>
- Hanifeh, M., Heilmann, R., Sankari, S., Rajamäki, M., Mäkitalo, L., Syrjä, P., Spillmann, T. (2015). S100A12 concentrations and myeloperoxidase activity in the intestinal mucosa of healthy dogs. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 234. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0551-1>
- Hanifeh, M., Sankari, S., Rajamäki, M. M., Syrjä, P., Kilpinen, S., Suchodolski, J. S., Spillmann, T. (2018). S100A12 concentrations and myeloperoxidase activities are increased in the intestinal mucosa of dogs with chronic enteropathies. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 125. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1441-0>
- Hawes, M., Riddle, A., Kirk, J., Jergens, A., & Allenspach, K. (2018). Interleukin-1 β expression is increased in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Veterinary Record*, vetrec-2017-104495. <https://doi.org/10.1136/vr.104495>
- Heilmann, R. (2015). Evaluation of Canine S100A12 and sRAGE as Novel Disease. Doctoral dissertation, EUA: Texas A & M University. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1969.1/155105>

- Heilmann, R., Berghoff, N., Mansell, J., Grützner, N., Parnell, N. K., Gurtner, C., Steiner, J. M. (2018). Association of fecal calprotectin concentrations with disease severity, response to treatment, and other biomarkers in dogs with chronic inflammatory enteropathies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(2), 679–692. <https://doi.org/10.1111/jvim.15065>
- Heilmann, R., Jergens, A., Ackermann, M., Barr, J., Suchodolski, J., & Steiner, J. (2012). Serum calprotectin concentrations in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *American Journal of Veterinary Research*, 73(12), 1900–1907. <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.12.1900>
- Heilmann, R. M., Grellet, A., Allenspach, K., Lecoindre, P., Day, M. J., Priestnall, S. L. Steiner, J. M. (2014). Association between fecal S100A12 concentration and histologic, endoscopic, and clinical disease severity in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 158(3–4), 156–166. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.01.006>
- Heilmann, R. M., Volkmann, M., Otoni, C. C., Grützner, N., Kohn, B., Jergens, A. E., & Steiner, J. M. (2016). Fecal S100A12 concentration predicts a lack of response to treatment in dogs affected with chronic enteropathy. *The Veterinary Journal*, 215, 96–100. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.03.001>
- Heilmann, R., Otoni, C. C., Jergens, A. E., Grützner, N., Suchodolski, J. S., & Steiner, J. M. (2014). Systemic levels of the anti-inflammatory decoy receptor soluble RAGE (receptor for advanced glycation end products) are decreased in dogs with inflammatory bowel disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 161(3–4), 184–192. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.08.003>
- Hill, S. (2013). Management of Canine Protein-Losing Enteropathy: Internist Perspective, *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2013*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=6700011>
- Honneffer, J. B., Minamoto, Y., & Suchodolski, J. S. (2014). Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. *World Journal of Gastroenterology*, 20(44), 16489–16497. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i44.16489>
- Jackson, H. A., Jackson, M. W., Coblenz, L., & Hammerberg, B. (2003). Evaluation of the clinical and allergen specific serum immunoglobulin E responses to oral challenge with cornstarch, corn, soy and a soy hydrolysate diet in dogs with spontaneous food allergy. *Veterinary Dermatology*, 14(4), 181–187.
- Jergens, A. (2002). Inflammatory Bowel Disease in the Dog and Cat, *Proceedings of the 27th Congress of the World Small Animal Veterinary Association*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=6693163>
- Jergens, A. (2014). Value and Performance of GI Function Tests for Gastrointestinal Disorders in Dogs/Cats, *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2014*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=6700454>
- Jergens, A., Andreasen, C., Hagemoser, W., Ridgway, J., & Campbell, K. (1998). Cytologic examination of exfoliative specimens obtained during endoscopy for diagnosis of gastrointestinal tract disease in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 213(12), 1755–1759. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9861970>

- Jergens, A. E., Crandell, J., Morrison, J. A., Deitz, K., Pressel, M., Ackermann, M., Evans, R. (2010). Comparison of Oral Prednisone and Prednisone Combined with Metronidazole for Induction Therapy of Canine Inflammatory Bowel Disease: A Randomized-Controlled Trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(2), 269–277. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0447.x>
- Jergens, A. E., Evans, R. B., Ackermann, M., Hostetter, J., Willard, M., Mansell, J., Day, M. J. (2014). Design of a Simplified Histopathologic Model for Gastrointestinal Inflammation in Dogs. *Veterinary Pathology*, 51(5), 946–950. <https://doi.org/10.1177/0300985813511123>
- Jergens, A. E., & Simpson, K. W. (2012). Inflammatory bowel disease in veterinary medicine. *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*, 4, 1404–1419. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22201965>
- Jergens, A. E., Sonea, I. M., O'Connor, A. M., Kauffman, L. K., Grozdanic, S. D., Ackermann, M. R., & Evans, R. B. (2009). Intestinal cytokine mRNA expression in canine inflammatory bowel disease: a meta-analysis with critical appraisal. *Comparative Medicine*, 59(2), 153–162. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19389307>
- Jergens, A. E., Willard, M. D., & Allenspach, K. (2016). Maximizing the diagnostic utility of endoscopic biopsy in dogs and cats with gastrointestinal disease. *The Veterinary Journal*, 214, 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.04.008>
- Jergens, A., Schreiner, C. A., Frank, D. E., Niyo, Y., Ahrens, F. E., Eckersall, P. D., Evans, R. (2003). A Scoring Index for Disease Activity in Canine Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(3), 291–297. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02450.x>
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2013). *Histologia Básica - Atlas*. (12.^a edição). Brasil: Nova Guanabara.
- Kathrani, A. (2017). Nutritional Management of Chronic Enteropathies, *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2017*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=8012128>
- Kathrani, A., House, A., Catchpole, B., Murphy, A., German, A., Werling, D., & Allenspach, K. (2010). Polymorphisms in the Tlr4 and Tlr5 Gene Are Significantly Associated with Inflammatory Bowel Disease in German Shepherd Dogs. *PLoS ONE*, 5(12), e15740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015740>
- Kathrani, A., House, A., Catchpole, B., Murphy, A., Werling, D., & Allenspach, K. (2011). Breed-independent toll-like receptor 5 polymorphisms show association with canine inflammatory bowel disease. *Tissue Antigens*, 78(2), 94–101. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2011.01707.x>
- Kathrani, A., Lee, H., White, C., Catchpole, B., Murphy, A., German, A., Allenspach, K. (2014). Association between nucleotide oligomerisation domain two (Nod2) gene polymorphisms and canine inflammatory bowel disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 161(1–2), 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.06.003>
- Kelly, C. R., Kahn, S., Kashyap, P., Laine, L., Rubin, D., Atreja, A., Wu, G. (2015). Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook. *Gastroenterology*, 149(1), 223–237. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.05.008>
- Kent, A. (2017). *Canine chronic enteropathy*. Disponível em: <https://www.vettimes.co.uk>

- Kilpinen, S., Rantala, M., Spillmann, T., Björkroth, J., & Westermarck, E. (2015). Oral tylosin administration is associated with an increase of faecal enterococci and lactic acid bacteria in dogs with tylosin-responsive diarrhoea. *The Veterinary Journal*, 205(3), 369–374. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.04.031>
- Kilpinen, S., Spillmann, T., Syrjä, P., Skrzypczak, T., Louhelainen, M., & Westermarck, E. (2011). Effect of tylosin on dogs with suspected tylosin-responsive diarrhea: a placebo-controlled, randomized, double-blinded, prospective clinical trial. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53(1), 26. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-26>
- Kilpinen, S., Spillmann, T., & Westermarck, E. (2014). Efficacy of two low-dose oral tylosin regimens in controlling the relapse of diarrhea in dogs with tylosin-responsive diarrhea: a prospective, single-blinded, two-arm parallel, clinical field trial. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56(1), 43. <https://doi.org/10.1186/s13028-014-0043-5>
- Lahmers, S. M., Sellon, R., & Peterson, P. (2016). Dogs with Protein Losing Enteropathy are in a Hypercoagulable State Dogs with Protein Losing Enteropathy are in a Hypercoagulable State, *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2006*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=6695071>
- Larson, R. N., Ginn, J. A., Bell, C. M., Davis, M. J., & Foy, D. S. (2012). Duodenal Endoscopic Findings and Histopathologic Confirmation of Intestinal Lymphangiectasia in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(5), 1087–1092. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00970.x>
- Leib, M. S., Larson, M. M., Grant, D. C., Monroe, W. E., Troy, G. C., Panciera, D. L., Werre, S. R. (2012). Diagnostic Utility of Abdominal Ultrasonography in Dogs with Chronic Diarrhea. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(6), 1288–1294. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.01009.x>
- Littman, M. P., Dambach, D. M., Vaden, S. L., & Giger, U. (2000). Familial Protein-Losing Enteropathy and Protein-Losing Nephropathy in Soft Coated Wheaten Terriers: 222 Cases (1983-1997). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(1), 68–80. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2000.tb01502.x>
- Luckschander, N., Allenspach, K., Hall, J., Seibold, F., Gröne, A., Doherr, M. G., & Gaschen, F. (2006). Perinuclear Antineutrophilic Cytoplasmic Antibody and Response to Treatment in Diarrheic Dogs with Food Responsive Disease or Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(2), 221–227. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02849.x>
- Luckschander, N., Hall, J. A., Gaschen, F., Forster, U., Wenzlow, N., Hermann, P., Welle, M. (2010). Activation of nuclear factor- κ B in dogs with chronic enteropathies. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 133(2–4), 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.08.014>
- Mackin, A. (2016). Hypoalbuminemia, *Proceedings of the 2016 Pacific Veterinary Conference*. *VIN.Com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=7351668>
- Maeda, S., Ohno, K., Nakamura, K., Uchida, K., Nakashima, K., Fukushima, K., Tsujimoto, H. (2012). Mucosal imbalance of interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist in canine inflammatory bowel disease. *The Veterinary Journal*.
- Male, D. K.; Brostoff, J., Roth, D., Roitt, I. (2013). *Immunology*. (8th Edition). Elsevier/Saunders.

- Manchester, A., Craig, W., Lidbury, J., Steiner, J., & Suchodolski, J. (2017). The Impact of Oral Tylosin on the Fecal Microbiota of Healthy Dogs, *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2017*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=8012128>
- Mancho, C., Sainz, Á., García-Sancho, M., Villaescusa, A., & Rodríguez-Franco, F. (2011). Evaluation of perinuclear antineutrophilic cytoplasmic antibodies in sera from dogs with inflammatory bowel disease or intestinal lymphoma. *American Journal of Veterinary Research*, 72(10), 1333–1337. <https://doi.org/10.2460/ajvr.72.10.1333>
- Mandigers, P. J. J., Biourge, V., Van Den Ingh, T. S. G. A. M., Ankringa, N., & German, A. J. (2010). A Randomized, Open-Label, Positively-Controlled Field Trial of a Hydrolyzed Protein Diet in Dogs with Chronic Small Bowel Enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(6), 1350–1357. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0632.x>
- Mansfield, C. S., James, F. E., Craven, M., Davies, D. R., O'Hara, A. J., Nicholls, P. K., Simpson, K. W. (2009). Remission of Histiocytic Ulcerative Colitis in Boxer Dogs Correlates with Eradication of Invasive Intramucosal *Escherichia coli*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(5), 964–969. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0363.x>
- Mapletoft, E. K., Allenspach, K., & Lamb, C. R. (2018). How useful is abdominal ultrasonography in dogs with diarrhoea? *Journal of Small Animal Practice* •, 59, 32–37. <https://doi.org/10.1111/jsap.12780>
- Marchesi, M. C. (2017). The role of diet in managing inflammatory bowel disease affected dogs: a retrospective cohort study on 76 cases. *Veterinaria Italiana*, 53(4), 297–302. <https://doi.org/10.12834/VetIt.566.2700.1>
- Marks, S., Laflamme, D. P., & McAloose, D. (2002). Dietary trial using a commercial hypoallergenic diet containing hydrolyzed protein for dogs with inflammatory bowel disease. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine*, 3(2), 109–118.
- Marks, S., & Weese, J. (2016). Fecal Microbiota Transplantation in Veterinary Medicine: From Bench to Cage Side, *Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2016*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=7346491>
- McCann, T. M., Ridyard, A. E., Else, R. W., & Simpson, J. W. (2007). Evaluation of disease activity markers in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Journal of Small Animal Practice*, 48(11), 620–625. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2007.00335.x>
- McMahon, L. A., House, A. K., Catchpole, B., Elson-Riggins, J., Riddle, A., Smith, K., Allenspach, K. (2010). Expression of Toll-like receptor 2 in duodenal biopsies from dogs with inflammatory bowel disease is associated with severity of disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 135(1–2), 158–163. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.11.012>
- Merrill, L. (2012). *Small animal internal medicine for veterinary technicians and nurses*. U.K: John Wiley & Sons.
- Minamoto, Y., Otoni, C. C., Steelman, S. M., Büyükleblebici, O., Steiner, J. M., Jergens, A. E., & Suchodolski, J. S. (2015). Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes*, 6(1), 33–47. <https://doi.org/10.1080/19490976.2014.997612>

- Murphy, K., German, A., Ruaux, C., Steiner, J., Williams, D., & Hall, E. (2003). Fecal alpha1-proteinase inhibitor concentration in dogs with chronic gastrointestinal disease. *Veterinary Clinical Pathology*, 32(2), 67–72.
- Murphy, K., Travers, P., Walport, M., & Janeway, C. (2008). *Janeway's immunobiology*. (5th edition). New York: Garland Science.
- Nakamura, R. M., & Barry, M. (2001). Serologic markers in inflammatory bowel disease (IBD). *MLO: Medical Laboratory Observer*, 33(11), 8-15;
- Nakashima, K., Hiyoshi, S., Ohno, K., Uchida, K., Goto-Koshino, Y., Maeda, S., Tsujimoto, H. (2015). Prognostic factors in dogs with protein-losing enteropathy. *The Veterinary Journal*, 205(1), 28–32. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.05.001>
- Neiger, R. (2013). Protein-Losing Enteropathy (PLE) in Dogs, *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association World Congress 2013*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=6699733>
- Nitzan, O., Elias, M., Peretz, A., & Saliba, W. (2016). Role of antibiotics for treatment of inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 22(3), 1078. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i3.1078>
- Otoni, C. C., Heilmann, R. M., García-Sancho, M., Sainz, A., Ackermann, M. R., Suchodolski, J. S., Jergens, A. E. (2018). Serologic and fecal markers to predict response to induction therapy in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(3), 999–1008. <https://doi.org/10.1111/jvim.15123>
- Owens, S., Parnell, N., & Moore, G. (2011). Canine Protein Losing Enteropathy: A Retrospective Analysis and Survival Study in 68 Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*.
- Palmer, C. S., Traub, R. J., Robertson, I. D., Devlin, G., Rees, R., & Thompson, R. C. A. (2008). Determining the zoonotic significance of Giardia and Cryptosporidium in Australian dogs and cats. *Veterinary Parasitology*, 154(1–2), 142–147. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2008.02.031>
- Penninck, D., Smyers, B., Webster, C. R. L., Rand, W., & Moore, A. S. (2003). Diagnostic value of ultrasonography in differentiating enteritis from intestinal neoplasia in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound: The Official Journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*, 44(5), 570–575.
- Peters, I. R., Helps, C. R., Calvert, E. L., Hall, E. J., & Day, M. J. (2005). Cytokine mRNA quantification in histologically normal canine duodenal mucosa by real-time RT-PCR. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 103(1–2), 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.08.020>
- Peterson, P. B., & Willard, M. D. (2003). Protein-losing enteropathies. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 33(5), 1061–1082. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(03\)00055-X](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(03)00055-X)
- Pietra, M., Fracassi, F., Diana, A., Gazzotti, T., Bettini, G., Peli, A., Roncada, P. (2013). Plasma concentrations and therapeutic effects of budesonide in dogs with inflammatory bowel disease. *American Journal of Veterinary Research*, 74(1), 78–83. <https://doi.org/10.2460/ajvr.74.1.78>

- Plumb, D. C., & Plumb, D. C. (2011). *Plumb's veterinary drug handbook*. (7th edition). Pharma Vet Inc.
- Poulin, R. V. (2016). Inflammatory Bowel Disease (IBD) in the Canine and Feline Patient, *Proceedings of the 38th Annual Ontario Association of Veterinary Technicians conference* In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=7195973>
- Procoli, F., Mötsküla, P. F., Keyte, S. V., Priestnall, S., & Allenspach, K. (2013). Comparison of Histopathologic Findings in Duodenal and Ileal Endoscopic Biopsies in Dogs with Chronic Small Intestinal Enteropathies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(2), 268–274. <https://doi.org/10.1111/jvim.12041>
- Rishniw, M., Liotta, J., Bellosa, M., Bowman, D., & Simpson, K. W. (2010). Comparison of 4 Giardia Diagnostic Tests in Diagnosis of Naturally Acquired Canine Chronic Subclinical Giardiasis. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0475.x>
- Rossi, G., Pengo, G., Caldin, M., Palumbo Piccionello, A., Steiner, J. M., Cohen, N. D., Suchodolski, J. S. (2014). Comparison of Microbiological, Histological, and Immunomodulatory Parameters in Response to Treatment with Either Combination Therapy with Prednisone and Metronidazole or Probiotic VSL#3 Strains in Dogs with Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. *PLoS ONE*, 9(4), e94699. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094699>
- Rudinsky, A. J., Howard, J. P., Bishop, M. A., Sherding, R. G., Parker, V. J., & Gilor, C. (2017). Dietary management of presumptive protein-losing enteropathy in Yorkshire terriers. *Journal of Small Animal Practice*, 58(2), 103–108. <https://doi.org/10.1111/jsap.12625>
- Rudinsky, A. J., Rowe, J. C., & Parker, V. J. (2018). Nutritional management of chronic enteropathies in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 253(5), 570–578. <https://doi.org/10.2460/javma.253.5.570>
- Rychlik, A., Kołodziejska-Sawerska, A., Nowicki, M., & Szweda, M. (2016). Clinical, endoscopic and histopathological evaluation of the efficacy of budesonide in the treatment of inflammatory bowel disease in dogs. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(1), 159–164. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0020>
- Rychlik, A., Nieradka, R., Kander, M., Nowicki, M., Wdowiak, M., & Kołodziejska-Sawerska, A. (2012). A correlation between the canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index score and the histopathological evaluation of the small intestinal mucosa in canine inflammatory bowel disease. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 15(2), 315–321.
- Sanchez-Munoz, F., Dominguez-Lopez, A., & Yamamoto-Furusho, J.-K. (2008). Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 14(27), 4280–4288.
- Sauter, S. N., Allenspach, K., & Blum, J. W. (2007). Cytokine mRNA abundance in intestinal biopsies from dogs with chronic diarrhea. *Veterinární Medicína*, 52(No. 8), 353–364. <https://doi.org/10.17221/1876-VETMED>
- Sauter, S. N., Benyacoub, J., Allenspach, K., Gaschen, F., Ontsouka, E., Reuteler, G., Blum, J. W. (2006). Effects of probiotic bacteria in dogs with food responsive diarrhoea treated with an elimination diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90(7–8), 269–277. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2005.00595.x>
- Schmitz, S., & Suchodolski, J. (2016). Understanding the canine intestinal microbiota and its modification by pro-, pre- and synbiotics - what is the evidence? *Veterinary Medicine and Science*, 2(2), 71–94. <https://doi.org/10.1002/vms3.17>

- Schmitz, S., Werling, D., & Allenspach, K. (2015). Effects of Ex-Vivo and In-Vivo Treatment with Probiotics on the Inflammasome in Dogs with Chronic Enteropathy. *PLOS ONE*, 10(3), e0120779. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120779>
- Schreiner, N. M. S., Gaschen, F., Gröne, A., Sauter, S. N., & Allenspach, K. (2008). Clinical Signs, Histology, and CD3-Positive Cells before and after Treatment of Dogs with Chronic Enteropathies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(5), 1079–1083. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0153.x>
- Simmerson, S. M., Armstrong, P. J., Wünschmann, A., Jessen, C. R., Crews, L. J., & Washabau, R. J. (2014). Clinical features, intestinal histopathology, and outcome in protein-losing enteropathy in Yorkshire Terrier dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(2), 331–337. <https://doi.org/10.1111/jvim.12291>
- Simpson, K. W. (2012). A standardized approach to managing chronic enteropathies in dogs, Proceedings of the 84th Annual Western Veterinary Conference, Las Vegas.
- Simpson, K. W., Dogan, B., Rishniw, M., Goldstein, R. E., Klaessig, S., McDonough, P. L., Schukken, Y. H. (2006). Adherent and Invasive Escherichia coli Is Associated with Granulomatous Colitis in Boxer Dogs. *Infection and Immunity*, 74(8), 4778–4792. <https://doi.org/10.1128/IAI.00067-06>
- Simpson, K. W., & Jergens, A. E. (2011). Pitfalls and Progress in the Diagnosis and Management of Canine Inflammatory Bowel Disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 41(2), 381–398. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.02.003>
- Slovak, J. E., Wang, C., Morrison, J. A., Deitz, K. L., LeVine, D. N., Otoni, C., Jergens, A. E. (2014). Endoscopic assessment of the duodenum in dogs with inflammatory bowel disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(5), 1442–1446. <https://doi.org/10.1111/jvim.12424>
- Stafford, J. (2017). Hot Topics in Small Animal Medicine and Surgery: Internal Medicine, *Proceedings of the Southwest Veterinary Symposium 2017*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=8116307>
- Steiner, J. M., & Allenspach, K. (2008). *Small Animal Gastroenterology*. London: Schluetersche.
- Suchodolski, J. (2017). New Approaches to Diagnosis and Interpretation of Intestinal Dysbiosis, *Proceedings from American College of Veterinary Internal Medicine Forum 2017*. In *VIN.com*. Retrieved from <https://www.vin.com/doc/?id=8012128>
- Suchodolski, J. S. (2016). Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. *The Veterinary Journal*, 215, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.04.011>
- Suchodolski, J. S., Camacho, J., & Steiner, J. M. (2008). Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiology Ecology*, 66(3), 567–578. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00521.x>
- Suchodolski, J. S., Dowd, S. E., Wilke, V., Steiner, J. M., & Jergens, A. E. (2012). 16S rRNA Gene Pyrosequencing Reveals Bacterial Dysbiosis in the Duodenum of Dogs with Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. *PLoS ONE*, 7(6), e39333. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039333>

- Suchodolski, J. S., Ruaux, C. G., Steiner, J. M., Fetz, K., & Williams, D. A. (2005). Assessment of the qualitative variation in bacterial microflora among compartments of the intestinal tract of dogs by use of a molecular fingerprinting technique. *American Journal of Veterinary Research*, 66(9), 1556–1562. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16261829>
- Tams, T. R. (2003). *Handbook of small animal gastroenterology*. (2nd edition). St Louis, EUA: Saunders.
- Tizard, I. R. (2013). *Veterinary immunology*. (9th edition). St Louis, EUA: Elsevier/Saunders.
- Tizard, I. R., & Jones, S. W. (2018). The Microbiota Regulates Immunity and Immunologic Diseases in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 48(2), 307–322. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2017.10.008>
- Trow, A. V., Rozanski, E. A., deLaforcade, A. M., & Chan, D. L. (2008). Evaluation of use of human albumin in critically ill dogs: 73 cases (2003–2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 233(4), 607–612. <https://doi.org/10.2460/javma.233.4.607>
- Vasquez, N., Suau, A., Magne, F., Pochart, P., & Pélissier, M.-A. (2009). Differential effects of Bifidobacterium pseudolongum strain Patronus and metronidazole in the rat gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(2), 381–386. <https://doi.org/10.1128/AEM.01731-08>
- Viganó, F., Perissinotto, L., & Bosco, V. R. F. (2010). Administration of 5% human serum albumin in critically ill small animal patients with hypoalbuminemia: 418 dogs and 170 cats (1994-2008). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20(2), 237–243. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2010.00526.x>
- Volkman, M., Steiner, J. M., Fosgate, G. T., Zentek, J., Hartmann, S., & Kohn, B. (2017). Chronic Diarrhea in Dogs - Retrospective Study in 136 Cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(4), 1043–1055. <https://doi.org/10.1111/jvim.14739>
- Walker, D., Knuchel-Takano, A., McCutchan, A., Chang, Y.-M., Downes, C., Miller, S., Garden, O. A. (2013). A Comprehensive Pathological Survey of Duodenal Biopsies from Dogs with Diet-Responsive Chronic Enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(4), 862–874. <https://doi.org/10.1111/jvim.12093>
- Walker, J., & Holowaychuk, M. (2017). Controversies in Plasma Use: Case-Based Discussion, *Proceedings of the International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium 2017*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=8135755>
- Washabau, R. J., Day, M. J., Willard, M. D., Hall, E. J., Jergens, A. E., Mansell, J., WSAVA International Gastrointestinal Standardization Group. (2010). Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(1), 10–26. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20391635>
- Wennogle, S. A., Priestnall, S. L., & Webb, C. B. (2017). Histopathologic Characteristics of Intestinal Biopsy Samples from Dogs With Chronic Inflammatory Enteropathy With and Without Hypoalbuminemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(2), 371–376. <https://doi.org/10.1111/jvim.14669>
- Westermarck, E. (2016). Chronic Diarrhea in Dogs: What Do We Actually Know About It? *Topics in Companion Animal Medicine*, 31(2), 78–84. <https://doi.org/10.1053/J.TCAM.2016.03.001>

- Westermarck, E., Frias, R., & Skrzypczak, T. (2005). Effect of diet and tylosin on chronic diarrhea in beagles. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(6), 822–827. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02771.x>
- Willard, M. (2015). *Canine Protein Losing Enteropathies*. *Israel Journal of Veterinary Medicine* (Vol. 70).
- Willard, M. (2016). Chronic Small Bowel Diarrhea - IBD Is Not Common, *Proceedings of the Southwest Veterinary Symposium 2016*. In *VIN.com*. Disponível em: <https://www.vin.com/doc/?id=7672044>
- Willard, M. D., Helman, G., Fradkin, J. M., Becker, T., Brown, R. M., Lewis, B. C., & Weeks, B. R. (2000). Intestinal crypt lesions associated with protein-losing enteropathy in the dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(3), 298–307. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10830544>
- Willard, M. D., Mansell, J., Fosgate, G. T., Gualtieri, M., Olivero, D., Lecoinde, P. Washabau, R. J. (2008). Effect of Sample Quality on the Sensitivity of Endoscopic Biopsy for Detecting Gastric and Duodenal Lesions in Dogs and Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(5), 1084–1089. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0149.x>
- Willard, M. D., Simpson, R. B., Cohen, N. D., & Clancy, J. S. (2000). Effects of dietary fructooligosaccharide on selected bacterial populations in feces of dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 61(7), 820–825. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2000.61.820>
- Willard, M., & Mansell, J. (2011). Correlating Clinical Activity and Histopathologic Assessment of Gastrointestinal Lesion Severity: Current Challenges. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 41(2), 457–463. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.01.005>
- Wray, J. (2018). *Canine internal medicine : what's your diagnosis?*. London, UK: Wiley.
- Yeo, E. (2017). The role of hydrolysed diets in diagnosing and treating canine enteropathy. *The Veterinary Nurse*, 8(5), 246–251. <https://doi.org/10.12968/vetn.2017.8.5.246>