



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE
AMILÓIDE A (SAA), FIBRINOGENIO, LEUCÓCITOS
TOTAIS E TERMOGRAFIA PARA AVALIAÇÃO DE
INFLAMAÇÃO SISTÊMICA EM EQUINOS**

**FÁBIA FERNANDA CARDOSO DE BARROS DA
CONCEIÇÃO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

**BRASÍLIA/DF
DEZEMBRO/ 2022**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE AMILÓIDE A (SAA),
FIBRINOGENIO, LEUCÓCITOS TOTAIS E TERMOGRAFIA PARA AVALIAÇÃO
DE INFLAMAÇÃO SISTÊMICA EM EQUINOS**

ALUNA: FÁBIA FERNANDA CARDOSO DE BARROS DA CONCEIÇÃO

ORIENTADOR: ANTÔNIO RAPHAEL TEIXEIRA NETO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

**BRASÍLIA/DF
DEZEMBRO DE 2022**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE AMILÓIDE A (SAA),
FIBRINOGENIO, LEUCÓCITOS TOTAIS E TERMOGRAFIA PARA AVALIAÇÃO
DE INFLAMAÇÃO SISTÊMICA EM EQUINOS**

FÁBIA FERNANDA CARDOSO DE BARROS DA CONCEIÇÃO

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
ANIMAL, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE EM SAÚDE ANIMAL.**

APROVADA POR:

ANTÔNIO RAPHAEL TEIXEIRA NETO,

(UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA)

(ORIENTADOR)

TAYNÁ CARDIM MORAIS FINO

(UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA)

(AVALIADOR INTERNO)

WILSON ROBERTO FERNANDES

(UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO)

(AVALIADOR EXTERNO)

**BRASÍLIA/DF,
5 DE DEZEMBRO DE 2022.**

AGRADECIMENTOS

Diante da grandiosidade de todas as conquistas em minha vida, eu não poderia deixar de pensar primeiramente na equipe espiritual que me rege. Sempre amparada pelos seres de luz, Deus em seus maravilhosos detalhes, sempre cuidou da minha vida terrena com muito carinho e me permitiu aprendizados incríveis.

Em especial a pessoa mais linda que já conheci, minha mãe, Iraní, gostaria de agradecer pela oportunidade de ser sua filha e poder ser um grãozinho do que és. Sempre tem palavras de ânimo e a força pra nunca desistir. Família é lugar emocional para onde você volta. És sempre a morada definitiva pra minha alma cigana.

In memoriam de Flávia, que sempre disse que a irmã mais velha é sempre a mais inteligente, hoje sei que estás orgulhosa da sua pirralha vivenciando esse ciclo.

Independente de onde e quando, sempre estaremos conectados, amo vocês, pai, Keké, Silas, Dinha, Zé, Flay, Dudu, tia Eliene, Dona Tê e meus filhinhos Pp, Pequena e Preto.

Aos meus amigos, pela paciência com minha ausência, por acreditarem em mim quando nem eu mesma acreditava, pelas palavras de conforto e partilha de muitos momentos alegres. Mari, Napaula e Zica vocês foram essenciais durante essa etapa.

Não enfrentei essa jornada sozinha, meu orientador, Antônio Raphael, sempre foi o ponto de equilíbrio entre os dias de ansiedade e de realizações, contribuindo com conselhos e aprendizados.

À todos que colaboraram diretamente na realização do meu experimento, residentes e funcionários do Hvetão, e em especial Dra. Gabriela Guenka, por ter confiado seu equipamento à mim.

Finalizo deixando meu grande carinho aos meus amados alunos e pacientes, que tanto me ensinam diariamente e permitem que eu exerça a medicina veterinária.

RESUMO

Monitorar a resposta inflamatória é um desafio clínico porque os sinais clássicos nem sempre são manifestados, sendo necessário exames complementares. Objetivou-se, no presente trabalho, acompanhar a resposta de marcadores da inflamação, tais como amiloide A sérica (SAA), fibrinogênio (Fb), leucócitos totais (LT) e a associação destes com a termografia infravermelha (TI), em equinos atendidos no Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília, com sinais clínicos de dor e inflamação sistêmica. Para isso, amostras de sangue de 15 animais (10 enfermos e 5 hígidos) foram coletadas, por venipunção jugular, três horas após admissão (momento 0) e 12, 24 e 48 horas após (momento 1, 2 e 3, respectivamente). Foram considerados animais adultos, sem distinção de sexo, encaminhados com síndrome cólica (clínica e cirúrgica), traumas (fratura de pelve, feridas), linfangite e otite. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos e ao longo do tempo para as variáveis LT, Fb e TI. Para SAA, enquanto os valores do grupo controle permaneceram estáveis ao longo do tempo, o grupo de enfermos teve aumento continuado nas concentrações a cada 12 horas. A termografia não se revelou método viável para detecção de inflamação sistêmica em equinos, entretanto, percebeu-se que a determinação de SAA teve importância na avaliação da inflamação nos animais enfermos. Contudo, o reduzido número amostral, revelou-se fator limitante para afirmações mais precisas em relação aos biomarcadores.

Palavras chaves: biomarcadores, proteínas de fase aguda, temperatura corporal, cavalo.

ABSTRACT

Monitoring the inflammatory response is a clinical challenge because classic signs are not always manifested, requiring complementary tests. The aim of this study was to follow the response of inflammatory biomarkers, such as serum amyloid A (SAA), fibrinogen (Fb), total leukocytes (LT) and their association with infrared thermography (IT), in horses referred to the Veterinary Teaching Hospital of the University of Brasília, with clinical signs of pain and systemic inflammation. For this purpose, blood samples from 15 animals (10 sick and 5 healthy) were collected, by jugular venipuncture, three hours after admission (time 0) and 12, 24 and 48 hours later (time 1, 2 and 3, respectively). Adult animals, regardless of sex, were referred with colic syndrome (clinical and surgical), trauma (pelvis fracture, wounds), lymphangitis and otitis. No differences were found between groups and over time for the LT, Fb and IT. For SAA, while control group was stable over time, sick group had continuous increase in concentrations every 12 hours. Thermography was not a viable method for detecting systemic inflammation in horses, however, it was noticed that SAA was important in the evaluation of systemic inflammation of sick animals. Reduced sample size was a limiting factor for more precise assertions in relation to inflammatory biomarkers.

Key-words: biomarkers, acute phase proteins, body temperature, horse.

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
Figura 1. Resposta de Fase Aguda	06
Figura 2. SAA como proteína multifuncional na modulação da resposta inflamatória	08
Figura 3. Fluxograma para colheita de amostras	15
Figura 4. Imagem termográfica da carúncula lacrimal (canto medial do olho direito)	16
Figura 5. Imagem termográfica da região do cilhadouro direito	16
Figura 6. Representação gráfica das concentrações de SAA de animais enfermos e hígidos ao longo do tempo experimental	20
Figura 7. Representação gráfica das concentrações de hemácias de animais enfermos e hígidos ao longo do tempo experimental	24
Figura 8. Representação gráfica concentrações de VCM de animais enfermos e hígidos ao longo do tempo experimental	24
Figura 9. Representação gráfica das concentrações de HCM de animais enfermos e hígidos ao longo do tempo experimental	25

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
Tabela 1. Classificação das principais proteínas de fase aguda dosadas em equinos e tempo de resposta em horas	7
Tabela 2. Diagnósticos dos pacientes enfermos que receberam atendimento clínico-cirúrgico no Hvet Grandes da UnB durante o período experimental (Brasília, 2022)	15
Tabela 3. Valores médios (desvio padrão) da avaliação clínica (FC, FR, temperatura retal), do hemograma e dos marcadores da inflamação (leucócitos totais, SAA, fibrinogênio) e termografia da carúncula lacrimal e cilhadouro direitos) de equinos hípidos (n=5) e enfermos (n=10), em diferentes momentos	18
Tabela 4. Valores médios de Fb (mg/dL) em pacientes enfermos com inflamação aguda e crônica, ao decorrer do tempo experimental	22
Tabela 5. Valores médios de SAA (µG/mL) em pacientes enfermos com inflamação aguda e crônica, ao decorrer do tempo experimental	22
Tabela 6. Correlações entre os biomarcadores da inflamação, leucócitos totais, SAA e fibrinogênio	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C - Graus Celsius

dL - Decilitro

fl - Fentolitro

g - Grama

µg - Micrograma

µL - Microlitro

µm - Micrômetro

pg - Picograma

% - Porcentagem

A:G - Proporção Albumina/Globulina

Bpm - Batimentos por minuto

CD - Cluster of differentiation

COX-2 - Cicloxigenase 2

DAMP - Padrão Molecular Associado ao Dano

ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Fb - Fibrinogênio

Hp - Haptoglobina

HVET/UnB- Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília

IL - Interleucina

LT - Leucócitos Totais

Mrm - Movimentos respiratórios por minuto

PAMPs - Padrão Molecular Associado ao Patógeno

PFA - Proteínas de Fase Aguda

PCR - Proteína C Reativa

RFA - Resposta de Fase Aguda

SAA - Amiloide A Sérica

TI - Termografia Infravermelha

TLR - Receptor do Tipo Toll Like

TNF - Fator de Necrose Tumoral

UnB- Universidade de Brasília

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	iii
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	v
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 OBJETIVO GERAL.....	03
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	03
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	04
3.1 Inflamação.....	04
3.2 Proteínas de Fase Aguda	06
3.3 Amiloide A Sérica	08
3.4 Fibrinogênio	10
3.5 Leucócitos	11
3.6 Termografia Infravermelha	13
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4.1 Delineamento experimental.....	15
4.2 Análise estatística	17
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
6 CONCLUSÃO.....	26
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

Monitorar a resposta inflamatória é um desafio clínico porque os sinais clássicos- calor, rubor, dor, tumor e perda de função, nem sempre são manifestados, sendo necessária provas bioquímicas séricas e/ou testes hematológicos para determinações laboratoriais. Proteínas de fase aguda compreendem um grupo grande e heterogêneo de proteínas, cuja a amiloide A sérica (SAA) é um marcador sensível de inflamação (CONCEIÇÃO et al., 2022; JACOBSEN e ANDERSEN, 2007).

Sugere-se que as concentrações de SAA refletem a atividade de doença subclínica e pode, portanto, ser usada, por exemplo, para monitorar mudanças em estados de doença e resposta à terapia (WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ et al., 2019; BELGRAVE et al., 2013). SAA é uma apolipoproteína, que possui várias isoformas, sendo detectada na fase aguda do soro de várias espécies, incluindo cavalos. Produzida principalmente pelo fígado, mas também sintetizada no colostro normal (MCDONALD et al., 2001) e fluido sinovial, SAA possui meia-vida plasmática muito curta (30-120 minutos), portanto diminuem logo (12 horas) após cessar a síntese, diferentemente do fibrinogênio (Fb) e haptoglobina (Hp) (LONG e NOLEN-WALSTON, 2020; BERG et al., 2011).

O uso das PFA (proteínas de fase aguda) em medicina veterinária está se tornando mais difundido à medida que kits de diagnóstico comerciais estão sendo validados (CRISMAN et al., 2008). Para diferenciar cavalos clinicamente normais daqueles com doença inflamatória ou infecciosa, a determinação de SAA revelou sensibilidade de 53%, especificidade de 94% e acurácia diagnóstica de 75%, enquanto a contagem de leucócitos, concentrações de fibrinogênio plasmático e relações albumina/globulina (A:G) obtiveram acurácia diagnóstica mais baixa 59-62% (LONG e NOLEN-WALSTON, 2020). Vários métodos para dosar SAA equina têm sido desenvolvidos, incluindo teste ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), teste de aglutinação passiva em látex com lâmina reversa, imunoenaios de fluxo lateral, imunodifusão radial única, ensaio imunoturbidométrico de aglutinação de látex e eletroimunoensaio. O uso da SAA para auxiliar no diagnóstico na rotina clínica equina tem sido prejudicado pela falta e indisponibilidade de métodos rápidos, confiáveis e automatizados (KIEMLE et al., 2022; VINER et al., 2017; JACOBSEN et al., 2006).

A termografia tem sido esporadicamente utilizada na medicina veterinária na avaliação de lesões de tecidos moles e lesões ósseas superficiais como modalidade de diagnóstico por imagem complementar. Qualquer objeto com temperatura acima do zero absoluto emitirá energia radiante de acordo com a lei de Stefan-Boltzmann. A termografia consiste em um

método de diagnóstico por imagem para detecção de radiação infravermelha de ondas médias e longas emitidas da superfície do corpo (CHRISTENSEN et al., 2012). Dentro do espectro eletromagnético, o comprimento de onda da radiação infravermelha é muito grande para ser detectado pelo olho humano, embora possa ser percebido como calor (KADUNC et al., 2020). Considera-se que tecidos lesionados apresentam a temperatura alterada, devido a mudança do fluxo sanguíneo e isso pode ser observado em uma imagem térmica do corpo, permitindo a localização anatômica da anormalidade. Aumentos na temperatura superficial estão relacionados à elevação do aporte sanguíneo local, seja por acréscimo na atividade metabólica ou por alteração vascular (TUNLEY & HENSON, 2004). Em um cavalo em repouso, o padrão de distribuição de temperatura superficial é uma característica altamente individual, apesar de influenciado por muitos fatores ambientes (KADUNC et al., 2020). Portanto, a termografia se apresenta como uma ferramenta de triagem na identificação de lesões (REDAELLI, et al., 2014).

A identificação da inflamação antes do aparecimento de sinais clínicos tem sido fundamental. Considerando a utilização de biomarcadores biológicos, como leucócitos totais e fibrinogênio, e as descobertas recentes das proteínas de fase aguda, é importante observar a aplicabilidade clínica das concentrações SAA, verificando sua acurácia e sensibilidade como método diagnóstico. Além da termografia, como método não invasivo, que poderá auxiliar na avaliação da inflamação. Objetivou-se acompanhar a dinâmica de marcadores da inflamação SAA, Fb, (LT) associado a termografia infravermelha (TI), em equinos atendidos no Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília (HVET/UnB), com sinais clínicos sistêmicos de dor e inflamação e verificar a sensibilidade de cada um desses marcadores, nas primeiras 48 horas de intervenção clínica-cirúrgica e a relação existente entre os referidos exames, quando comparados a animais hígidos.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Acompanhar a resposta de marcadores da inflamação SAA, Fb, LT associado a termografia infravermelha, em equinos com sinais sistêmicos de inflamação ao exame clínico, para verificar a sensibilidade de cada um desses marcadores, nas primeiras 48 horas de intervenção clinica-cirurgica e a relação existente entre os referidos exames, quando comparados a animais hígidos

2.2. Objetivos Específicos

Avaliar o comportamento das concentrações de SAA, Fb e LT no momento de admissão e durante as primeiras 48 horas de internação dos animais;

Detectar a temperatura superficial da região de cilhadouro e ocular (carúncula lacrimal) no momento da admissão e durante a internação;

Avaliar a relação entre tais biomarcadores e a temperatura superficial de equinos durante as primeiras 48 horas de internação.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Inflamação

A inflamação é um evento comum, pois pode ser causada por grande número de estímulos, infecciosos ou não. Independente da causa, a reação inflamatória se inicia com o reconhecimento do agente inflamatório, que é realizado por moléculas que sinalizam a sua presença, identificadas por receptores em células do sistema imunitário. Diante dos fatores que permitem fugir ou evitar agressões, o organismo possui dois mecanismos básicos de defesa: barreiras mecânicas e químicas, em pele e mucosas, e resposta imunitária (PEREIRA, 2021).

De acordo com Tizard (2019), minutos após a lesão tecidual se desenvolve a inflamação aguda. O tecido lesionado gera três tipos de sinais. Inicialmente, as células rompidas liberam padrões moleculares associados a danos (DAMPs), que conseqüente libera citocinas, quimiocinas e enzimas por células sentinelas. Posteriormente, os microrganismos invasores liberam padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), que desencadeiam resposta de células sentinelas. Por último, a dor devido à lesão tissular faz com que haja a liberação de peptídeos bioativos através dos nervos sensoriais. Essa mistura de moléculas atrai leucócitos de defesa, e simultaneamente, atua sobre os vasos sanguíneos, provocando maior fluxo sanguíneo local.

Proteínas plasmáticas, como proteínas de complemento e de fase aguda, e anticorpos entram nos locais inflamatórios (ABBAS et al., 2022). Conforme Tizard (2019), a síntese de três principais citocinas ocorrem quando há exposição a agentes infecciosos ou PAMPs. São elas: fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6). Tais enzimas induzem os hepatócitos a produzir proteínas de fase aguda, incluindo SAA e Fb, que são secretadas no sangue (ABBAS et al., 2022). Apesar de isto acabar levando à perda muscular, os aminoácidos são disponibilizados para a produção de anticorpos e citocinas. Novas proteínas podem também ser sintetizadas nos linfonodos, nas tonsilas e no baço, assim como nos leucócitos sanguíneos. Cerca de 30 proteínas de fase aguda foram identificadas e muitas são importantes componentes do sistema imunológico inato (TIZARD, 2019).

O TNF- α é produzido bem no início da inflamação e, a seguir, vêm ondas de IL-1 e, então, de IL-6. As células sentinelas ativadas também secretam quimiocinas responsáveis por atrair células de defesa aos locais de invasão microbiana, além de produzir a enzima ciclooxigenase 2 (COX-2), que gera lipídeos inflamatórios, como as prostaglandinas e os leucotrienos (TIZARD, 2019). TNF e IL-1 agem no hipotálamo para aumentar a temperatura corporal (febre), sendo essas citocinas chamadas de pirogênicos (ABBAS et al., 2022). Esta febre

melhora alguns componentes da resposta imunológica, por exemplo, aumenta a migração e a quimiotaxia transendotelial de neutrófilos e aumenta o acúmulo dessas células dentro do tecido. O aumento da temperatura corpórea leva ao amadurecimento das células dendríticas, aumenta a circulação de linfócitos e promove a secreção de interleucina 2 (IL-2). As temperaturas, dentro do limiar da febre, aumentam a sobrevivência de linfócitos T por inibir a apoptose dessas células. Além da indução da febre, as citocinas inflamatórias, em especial a IL-1, levam à liberação de moléculas indutoras do sono no cérebro. O aumento da letargia é comumente associado à febre e pode, por reduzir as demandas energéticas do animal, aumentar a eficiência dos mecanismos de defesa e de reparo (TIZARD, 2019).

O aumento nas concentrações de TNF- α gera os sinais clássicos de inflamação, incluindo calor, aumento de volume (tumor), dor e vermelhidão (rubor), além de deprimir o débito cardíaco, induzir trombose microvascular e causar extravasamento capilar (ABBAS et al., 2022). Mudança na sensibilidade dolorosa deve-se à produção de endorfinas, que, nos centros talâmicos e na formação reticular que integram os estímulos dolorosos, aumentam o limiar para a sensação dolorosa (PEREIRA, 2021). Logo após a lesão, o fluxo sanguíneo pelos pequenos capilares é reduzido fazendo com que leucócitos se liguem às paredes de vasos sanguíneos. Posteriormente, os pequenos vasos sanguíneos da área danificada se dilatam, e o fluxo sanguíneo para o tecido lesionado aumenta muito. Enquanto ocorre a vasodilatação, o fluido passa do sangue para os tecidos provocando edema e aumento de volume (TIZARD, 2019).

O exsudato líquido pode ser rico ou pobre em proteínas, e sua quantidade é variável. A pressão oncótica intersticial aumenta devido às proteínas plasmáticas, favorecendo a retenção de água fora dos vasos. O exsudato comprime ou deforma os vasos da circulação linfática, tornando-a sobrecarregada, conseqüentemente perdendo a eficácia em drenar, agravando a retenção de água no interstício. Tudo isso contribui mais ainda para a formação do edema inflamatório (PEREIRA, 2021)

Quando os vasos sanguíneos se dilatam e ocorre o extravasamento de fluido da corrente sanguínea para os tecidos, o sistema da coagulação é ativado gerando grandes quantidades de trombina (principal enzima coagulante). A trombina atua sobre o fibrinogênio no fluido tecidual e no plasma, produzindo fibrina insolúvel. A fibrina é, então, depositada nos tecidos inflamados, onde forma uma barreira à disseminação da infecção. A ativação da cascata da coagulação também inicia o sistema fibrinolítico, levando à ativação do plasminogênio, que gera plasmina, uma potente enzima fibrinolítica. Ao destruir a fibrina, a plasmina libera fragmentos peptídicos que atraem neutrófilos. Se o agente invasor for eliminado, o processo inflamatório é

interrompido e o fluxo sanguíneo volta ao normal (TIZARD, 2019).

A extensão de uma inflamação para todo o organismo deve-se à disseminação do próprio agente inflamatório ou de moléculas de alarme (DAMP e PAMP) a partir do local agredido. Por isso mesmo, os agentes infecciosos que proliferam no local da invasão e disseminam-se por via sanguínea são os principais causadores de respostas inflamatórias sistêmicas. Todavia, inúmeras outras agressões (p. ex., traumatismos graves, queimaduras extensas, cirurgias) também podem gerar grande quantidade de alarminas, as quais caem na circulação e ativam, de modo sistêmico, a síntese de mediadores da inflamação. Várias são as formas de cura espontânea de inflamações (PEREIRA, 2021).

3.2 Proteínas de Fase Aguda (PFA)

Proteínas de fase aguda compreendem um grupo grande e heterogêneo de proteínas, atuando como marcadores de inflamação (JACOBSEN e ANDERSEN, 2007).

A RFA (resposta de fase aguda) é uma resposta inflamatória inespecífica, estimulada quando as células lesadas liberam metabólitos e produtos do ácido araquidônico de estresse oxidativo, seguido pela liberação de citocinas, como a interleucina (IL)- 1 β , IL-6 e fator de necrose tumoral- α (TNF- α), de macrófagos e monócitos (Figura 1). Possuem como função a ativação do complemento, coagulação, fibrinólise e inibição de proteases de neutrófilos. Combinações de citocinas em várias células alvo podem ter efeito estimulatório ou supressor. Por exemplo, a elaboração de SAA requer IL-6 e IL-1 ou TNF- α , enquanto a IL-1 e TNF- α inibem a indução de Fb por IL-6. Embora a RFA seja crítica na inflamação e cura, também funciona como um “anti-inflamatório”, capacidade que atenua a resposta inflamatória a estímulos (CRISMAN et al., 2008).

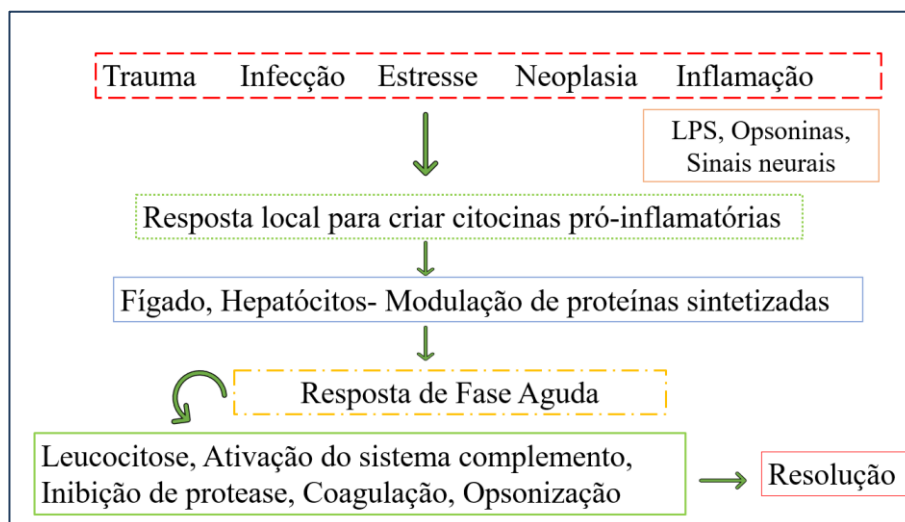


Figura 1- Resposta de Fase Aguda (modificado de Cray et al., 2019).

As PFA mais frequentemente determinadas na prática equina são Fb (CRISMAN et al., 2008), proteína C reativa (PCR) (CYWIŃSKA et al., 2012), SAA e Hp (CYWIŃSKA et al., 2012; CRISMAN et al., 2008). As PFA são classificadas como negativa ou positiva, dependendo se seus níveis séricos/plasmáticos diminuem ou aumentam durante uma RFA, respectivamente. Uma PFA negativa notável é a albumina (LONG e NOLEN-WALSTON, 2020; CRISMAN et al., 2008), sendo PFA positivas o Fb, Hp e SAA. Os níveis séricos/plasmáticos de PFA positiva aumentam em resposta a um evento desencadeante (por exemplo, infecção, trauma) e diminuem coincidindo com a recuperação (LONG e NOLEN-WALSTON, 2020). As principais PFA positivas têm as seguintes características: concentrações baixas ou indetectáveis no plasma de indivíduos hígidos; concentrações aumentam mais de 10 vezes rapidamente durante RFA (CRISMAN et al., 2008). A recaída ou um insulto novo/secundário, resulta em um retorno a concentrações aumentadas (LONG e NOLEN-WALSTON, 2020; CRISMAN et al., 2008).

Níveis elevados das PFA são comumente usados clinicamente como sinais de infecção ou outros processos inflamatórios (ABBAS et al., 2022). A tabela 1, demonstra o tempo de resposta das principais PFA utilizadas em equinos.

As PFA positivas podem ser ainda divididas em proteínas de fase aguda “maiores”, presentes em pequenas quantidades em indivíduos hígidos e cuja concentração aumenta até 1.000 vezes durante um estímulo inflamatório, e em proteínas de fase aguda “menores e moderadas” que estão presentes em níveis mais elevados no plasma de indivíduos hígidos e cuja concentração aumenta apenas entre 1 e 10 vezes durante a inflamação (OERTLY et al., 2021). Exemplos de PFA moderados em cavalos incluem Hp, Fb e PCR (CRISMAN et al., 2008).

Tabela 1- Classificação das principais proteínas de fase aguda dosadas em equinos e tempo de resposta em horas (modificado de Enriquez e Samanta, 2018).

Proteína	Classificação	Tempo de resposta	
		Tempo de elevação/ diminuição	Pico
Amiloide A Sérica	Positiva/ Maior	6-12	48
Fibrinogênio	Positiva/ Moderada	24	72-144
Haptoglobina	Positiva/ Menor	12-24	72-120
Proteína C Reativa	Positiva/ Menor	24	72-120
Ceruloplasmina	Positiva/ Menor	120	168-336
Albumina	Negativa	144	192-240

3.3 Amiloide A Sérica

SAA é uma família de proteínas homólogas que diferem em sua estrutura e padrão de expressão. Embora SAA4 seja constitutivamente expressa e represente mais de 90% da SAA total durante a homeostase, SAA1 e SAA2 são específicas para a RFA e são definidos coletivamente como SAA aguda (BADOLATO et al., 2000).

Considerada única PFA positiva no cavalo, o nível de resposta é idealmente equivalente à quantidade de tecido danificado. Condições não inflamatórias, estado nutricional, manipulação ou outras formas menores de estresse, não afetam os valores de PFA (JACOBSEN e ANDERSEN, 2007). SAA começa a aumentar entre 6 a 12 horas após a resposta de fase aguda inflamatória e atinge o pico em 48 horas. Em comparação, o fibrinogênio está presente em níveis séricos no cavalo saudável e aumenta apenas 2-4 vezes durante a RFA. Após uma RFA, a concentração de fibrinogênio começa a aumentar em 24-72 horas com picos 72-144 horas e permanece acima da linha de base por mais de 7-14 dias (Tabela 1). Esses dados fornecem evidências de que o SAA poderia ser um indicador de infecção mais sensível e específico do que fibrinogênio (AITKEN et al., 2017).

Pereira (2021), sugere que a molécula de SAA se liga a TLR2 e também seja um agonista endógeno de TLR4. Isso leva à ativação do TNF- κ B e à produção de diversas citocinas inflamatórias. A SAA também carrega o colesterol ao fígado antes de sua secreção na bile. Esta molécula recruta linfócitos para os locais inflamados e induz à síntese de enzimas que degradam a matriz extracelular. A SAA é quimiotático para neutrófilos, monócitos e linfócitos (Figura 2).

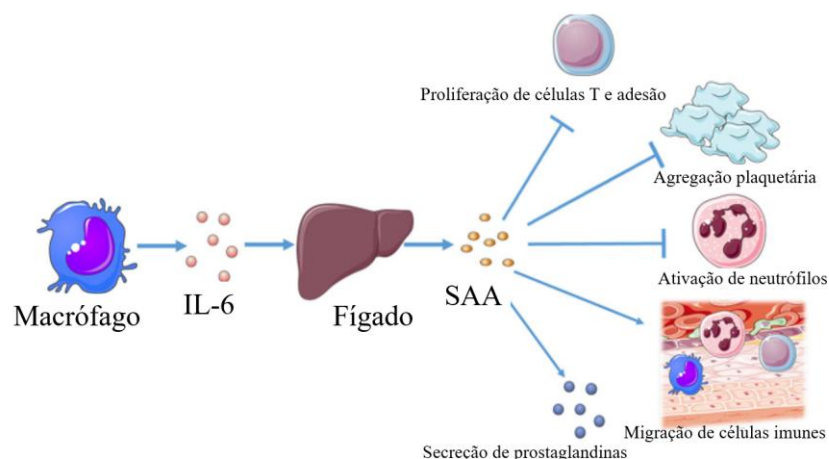


Figura 2. SAA como proteína multifuncional na modulação da resposta inflamatória. A IL-6 produzida por macrófagos após estimulação local promove a produção hepática de SAA que tem funções na inibição da proliferação de linfócitos, atividades de neutrófilos, adesão de linfócitos T à matriz extracelular, agregação plaquetária e indução de adesão, migração e infiltração tecidual de monócitos, neutrófilos e síntese de prostaglandina (modificado de Witkowska-Piłaszewicz et al., 2019).

Conforme Badolato e colaboradores (2000), SAA regula as atividades antimicrobianas das células polimorfonucleadas, que resulta em um aumento rápido e transitório de concentração citosólica de cálcio e regulação positiva da expressão na superfície celular de antígenos envolvidos em adesão e reconhecimento microbiano, como CD11c e CD16. Além disso, a estimulação aumenta a secreção de lactoferrina, uma proteína antimicrobiana.

Vários relatos mostraram que os potros têm valores basais de SAA semelhantes aos de cavalos adultos e a taxa de ascensão e queda é comparável entre essas categorias. Por causa da presença de SAA no colostro, tem sido sugerido que o aumento das concentrações de SAA em potros saudáveis logo após o nascimento pode estar associado à absorção colostrálica (LONG e NOLEN-WALSTON, 2020). Barr e Nieman (2020) indicaram que as dosagens de SAA auxiliam no diagnóstico de sepse neonatal.

Foi levantada a hipótese de que as determinações de SAA podem ajudar a distinguir doenças respiratórias infecciosas de doença respiratória não infecciosa causada por reações alérgicas em cavalos (JACOBSEN e ANDERSEN, 2007). Em cavalos com doenças gastrointestinais, concentrações aumentadas de SAA podem confirmar o caráter inflamatório da doença. Maiores concentrações de SAA foram encontradas em equídeos com lesões inflamatórias abdominais (enterite, peritonite), em comparação com aqueles com obstruções ou estrangulamentos intestinais simples (DE COZAR et al., 2020). Barros (2018) detectou que, cavalos com piroplasmose possuem resposta inflamatória e alterações de marcadores inflamatórios, sendo SAA considerada dentre os mais sensíveis.

O diagnóstico precoce é fundamental para a eliminação rápida da infecção e inflamação para evitar a degradação contínua da cartilagem e osteoartrite (WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ et al., 2019). SAA pode ser mensurada no líquido sinovial, porém as concentrações séricas, potencialmente ofereceram um método não invasivo e rápido para monitorar a resposta ao tratamento em lesões que penetram nas estruturas sinoviais (HALTMAYER et al., 2017).

Procedimentos cirúrgicos demonstraram induzir reações de fase aguda e causar elevação níveis plasmáticos de SAA. Aplicações seriadas de penicilina G (GORDON et al., 2022), a vacinação contra a gripe e o tétano causa uma moderada resposta de SAA, que diminui dentro de 3-4 dias após a vacinação (JACOBSEN e ANDERSEN, 2007).

Em processos inflamatórios localizados, como doenças oculares, uveíte e ceratite, não revelaram aumento na SAA plasmática (WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ et al., 2019). Não foi verificada correlação entre proteínas de fase aguda (como SAA) e biomarcadores de atividade muscular, em atletas de hipismo clássico (CARVALHO FILHO, 2017), sugerindo que alterações de SAA está relacionada a esforços de longa duração (CARVALHO FILHO, 2019),

estabelecendo as dosagens de SAA como um recurso valioso no monitoramento de processos inflamatórios e importante elemento complementar no controle do impacto do treino nos animais (CARVALHO FILHO, 2020). Um estudo que determinou PCR e SAA em equinos com mieloencefalite protozoária equina concluiu que os níveis séricos foram praticamente indetectáveis, não sendo indicado como auxílio diagnóstico da enfermidade (MITTELMAN et al., 2018). Além disso, experimentos com indução de infecções parasitárias também não conseguiram avaliar aumentos séricos de SAA (NOLEN-WALSTON, 2015).

SAA deve ser usado em combinação com outros testes de diagnóstico e procedimentos e não deve ser usado como a única base para estimular o tratamento antimicrobiano. A análise seriada é provavelmente mais eficaz como uma ferramenta de prognóstico do que a sua determinação apenas na admissão (WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ et al., 2019).

3.4 Fibrinogênio

O fibrinogênio é uma importante glicoproteína de fase aguda, produzida em maior quantidade pelo fígado na presença de afecções inflamatórias (AUER et al., 1989; COTRAN et al., 1989; MILLS et al., 1998) e infecciosas (MACSHERRY et al., 1970; SCHALM, 1970). Encontra-se livre no sangue e dentro dos grânulos plaquetários (HANDAGAMA et al., 1990) e constitui aproximadamente 5% da proteína plasmática total (KANEKO, 1997), sendo espécie específica (STORMORKEN, 1957; DODDS, 1997). Considerado um fator de coagulação (fator I), é convertido em fibrina pela trombina. A reticulação da fibrina estabiliza o tampão plaquetário formado durante a hemostasia primária (EPSTEIN et al., 2012). A hemostasia é a cessação fisiológica da perda de sangue a partir de interações entre a parede do vaso sanguíneo, plaquetas, coagulação e fibrinólise (LOWE et al., 2004).

Em cavalos sadios a concentração do fibrinogênio pode variar entre 200 e 400 mg dL⁻¹ (STORMORKEN, 1957), com limites mínimo e máximo aceitáveis de 100 a 500 mg dL⁻¹, respectivamente (COLES, 1984), enquanto valor igual ou superior a 1.000 mg/dL indica inflamação em estágio mais avançado e de pior prognóstico (SOUZA et al., 2006).

Após cirurgias, em decorrência da resposta de fase aguda, as concentrações de fibrinogênio aumentam, principalmente pela síntese de fibrinogênio de alto peso molecular (DI FILIPPO et al., 2009). Apesar da falta de especificidade diagnóstica, a determinação do fibrinogênio, segundo Tamzali et al. (2001), torna-se especialmente conveniente, porque pode ser facilmente mensurada.

Trabalhos indicam que o fibrinogênio detecta inflamação antes que a contagem de glóbulos brancos mude, ou mesmo quando permanece normal. Permite monitoramento do

desenvolvimento do processo inflamatório e da resposta a terapia estabelecida. Entre as desvantagens, tem-se que ele permanece em altas concentrações em condições normais, sua faixa de valores normal é muito amplo, seu papel na cascata de coagulação torna difícil interpretar as mudanças em seus valores, existem fatores que pode causar mascaramento de suas alterações durante a inflamação, como coagulação intravascular disseminada ou patologias em que o consumo de fibrinogênio excede sua formação (ENRIQUEZ e SAMANTA, 2018).

3.5 Leucócitos

O objetivo principal da inflamação é assegurar que as células fagocíticas interceptem e destruam os microrganismos invasores da forma mais rápida e eficiente possível. Os leucócitos são células de defesa que circulam pela corrente sanguínea. São derivados de células-tronco pluripotentes localizadas na medula óssea. Todos os tipos de leucócitos, incluindo neutrófilos, monócitos, linfócitos, e as células dendríticas, são originários das células-tronco da medula óssea (mieloides) e todas essas células auxiliam na defesa do corpo. Neutrófilos e macrófagos são especializados nos processos de ingestão e morte dos microrganismos invasores. São originárias de uma célula-tronco em comum, mas são morfologicamente muito diferentes e desempenham papéis diversos, porém complementares. Dessa forma, os neutrófilos respondem aos microrganismos invasores muito rapidamente, fagocitando-os, mas não são capazes de manter o esforço fagocítico por muito tempo. Os macrófagos, por outro lado, movimentam-se de forma mais lenta, mas são fagócitos altamente eficazes, capazes de fagocitar repetidas vezes (TIZARD, 2019).

Após o reconhecimento das agressões exógenas (físicas, químicas ou biológicas) ou endógenas (estresse metabólico) são liberados mediadores inflamatórios, que geram alterações na microcirculação, permitindo saída de plasma e de leucócitos para reparar os danos produzidos. A diapedese (saída de leucócitos dos vasos) depende de agentes quimiotáticos que estimulam receptores celulares e induzem a formação de pseudópodes que promovem o deslocamento dos leucócitos. Os ativadores mais potentes de células endoteliais são alarminas e citocinas pró-inflamatórias (PEREIRA, 2021).

Dentre os diversos leucócitos, o neutrófilo é o mais abundante para recrutamento do sangue para os locais de inflamação aguda, por isso são as células predominantes do exsudato nas primeiras 24 horas. Porém, monócitos sanguíneos, que se tornam macrófagos nos tecidos, se tornam importantes em algumas reações ao longo do tempo (ABBAS et al., 2022). Embora muito eficazes na defesa, os neutrófilos são potencialmente perigosos, razão pela qual não podem residir nos tecidos, sendo mantidos em grande número sequestrados dentro dos vasos e

na medula óssea. Como os macrófagos são fagócitos com poder microbicida imediato menor, podem migrar e residir nos tecidos, sem grande ameaça à integridade do organismo (PEREIRA, 2021).

O TNF- α atua sobre neutrófilos e aumenta sua capacidade microbicida, estimula a fagocitose por macrófago e a produção de oxidantes. Amplifica e prolonga a inflamação ao promover a síntese macrofágica de outros mediadores, como NOX2 e COX-2, e também ativa mastócitos. Para expandir a inflamação, a IL-1 β atua sobre as células endoteliais vasculares, tornando-as adesivas para neutrófilos, e outros macrófagos. Durante infecções graves, a IL-1 β em associação ao TNF- α , é responsável pelo comportamento clínico do paciente. Dessa forma, atua no cérebro, provocando febre, letargia, mal-estar e falta de apetite; sobre as células musculares para mobilizar aminoácidos, o que provoca dor e fadiga; e sobre os hepatócitos, induzindo a produção de novas proteínas, denominadas proteínas de fase aguda, que auxiliam a defesa do corpo (TIZARD, 2019).

Em uma inflamação podem ser encontrados todos os tipos de leucócitos. A identificação dos diversos tipos de células do exsudato em preparações de rotina nem sempre é possível. O exsudato celular é muito dinâmico e modifica-se com o evoluir do processo inflamatório. Os fenômenos de resolução começam nas fases iniciais da inflamação e deles depende sua progressão, com cura ou cronificação. O tempo de cura de inflamações agudas, que se instalam e terminam em até 12 semanas, relaciona-se com a eficácia dos processos de eliminação da causa e dos mecanismos de resolução. Inflamações crônicas, caracterizadas por duração acima de 24 semanas, cronificam-se porque os mecanismos de eliminação da causa fracassaram ou porque surgem fenômenos de autoagressão imunitária (PEREIRA, 2021).

As amostras para hemograma em cavalos devem ser manuseadas com o mesmo cuidado que em outras espécies. A anticoagulação com heparina é suficiente, mas as características morfológicas e a coloração das células podem ficar alteradas. A morfologia dos leucócitos é melhor observada se os esfregaços forem feitos com EDTA e sangue anticoagulado logo após a colheita. Os intervalos de referência determinados pela maioria dos laboratórios são bastante amplos, porque os valores diferem entre raças, idades e sexos. Em condições de estresse, dor ou após atividade física vigorosa, as catecolaminas aumentam o débito cardíaco, a pressão arterial hidrostática e a atividade muscular. Os neutrófilos são subsequentemente varridos do pool marginal para o pool circulante, aumentando transitoriamente o número de células pela contagem de leucócitos. As alterações inflamatórias no leucograma têm aparências variáveis dependendo da gravidade e duração do agente, lesão ou condição desencadeante. Um desvio à esquerda é a marca da inflamação. Porém, são vistos com menos frequência porque os cavalos

não exibem deslocamentos marcados para a esquerda em estados inflamatórios em comparação com outras espécies (cães e gatos). Por isso, a hiperfibrinogenemia é frequentemente utilizada como um indicador adicional de inflamação (WELLES, 2010).

3.6 Termografia Infravermelha

De acordo com a lei de Stefan-Boltzmann, qualquer objeto cuja temperatura seja maior que o zero absoluto emitirá energia radiante, proporcionalmente à sua temperatura absoluta. Desta forma, a lei termodinâmica da transferência de calor por radiação justifica a utilização termografia infravermelha. (REDAELLI, et al., 2014; SOROKO & HOWELL, 2018).

Considera-se que tecidos lesionados apresentam a temperatura alterada, por causa da mudança no fluxo sanguíneo e isso pode ser observado em uma imagem térmica do corpo, permitindo a localização anatômica da anormalidade. Aumentos na temperatura superficial estão relacionados à elevação do aporte sanguíneo local, seja por acréscimo na atividade metabólica ou por alteração vascular. Clinicamente, isso está associado à inflamação, portanto, é uma reação secundária à alguma injúria. Por outro lado, reduções na temperatura superficial são resultado de menor perfusão tecidual, por causa de desvios vasculares, trombozes, isquemias, anomalias do sistema nervoso autônomo (TUNLEY & HENSON, 2004) ou redução no bombeamento sanguíneo secundário (HOFFMANN, et al., 2001).

Para se obter imagens térmicas confiáveis, são necessários alguns cuidados como a contenção mínima do animal, restrição da energia radiante externa, mensuração da temperatura ambiente e a remoção de artefatos, como lama, poeira ou suor. A contenção pode ser facilmente realizada por um manejador habilidoso ou em um brete. A energia radiante pode ter seus efeitos reduzidos se a termografia for captada sob abrigo da luz solar. Idealmente, a temperatura ambiente deve estar na faixa dos 20°C, embora qualquer temperatura seja aceitável, desde que os animais não estejam suando (TURNER, 2001). A fim de se evitar artefatos na imagem, pode-se realizar escovação do campo a ser termografado, desde que se aguarde cerca de 10 minutos, para a dissipação do calor gerado (SOROKO et al., 2016), além de assegurar que estão enxutos e sem bandagens, por, pelo menos, 2 horas (TURNER, 2001).

A radiação infravermelha emitida pela superfície do corpo do animal cobre os comprimentos de onda entre 3 e 50 μm . A temperatura corporal é exibida por uma imagem colorida no termógrafo, que ilustra os valores de temperatura apropriados, sem contato físico com o animal examinado, sendo considerado, portanto, um método não invasivo (KADUNC et al., 2020). Um termograma é gerado pela conversão de sinais infravermelhos em imagens pseudocoloridas de luz visível. Mais comumente, os termogramas apresentam as áreas mais

quentes em branco ou vermelho, áreas com temperatura intermediária em verde e amarelo e as áreas mais frias em azul e preto (SOROKO e MOREL, 2016). Os termogramas são avaliados visualmente e processados por softwares que revelam dados úteis, como a temperatura média encontrada nas regiões escolhidas (SILVA et al., 2022). A perfusão local é um fator importante que influencia as variações de temperatura corporal, sendo que áreas de maior atividade metabólica, como ombro, garupa, cilhadouro e carúncula lacrimal têm sido estudadas como locais que mais alteram temperatura (KADUNC et al., 2020; TRINDADE et al., 2019; MOURA et al., 2011).

A termografia tem sido relatada em vários estudos. Dentre eles, quando há aumento do fluxo sanguíneo, atividade metabólica do útero e de tecidos fetais, a termografia infravermelha pode ser uma ferramenta útil na detecção de gestação em éguas (DOMINO et al., 2022). Avaliações da região toracolombar e peso do cavaleiro foram estudadas por Masko, et. al. (2021) e Wilk, et. al. (2020). Os resultados de um estudo que correlaciona de TI com lactato sanguíneo, mostraram que a TI pode complementar as medições de sangue para avaliar a adaptação ao aumento de carga de trabalho durante o treinamento de cavalos de corrida (WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ et al., 2022). Porém, a maioria das publicações consistem em investigações locomotoras, tanto fisiológicas, quanto patológicas (YANMAZ et al., 2020; TEIXEIRA NETO et al., 2020).

Dois tipos de equipamentos são relatados na literatura, termógrafos de contato e de não contato, onde ambos apresentam vantagens e desvantagens (YANMAZ et al., 2007). O termógrafo foi projetado principalmente para aplicações industriais e militares e até recentemente é considerado um equipamento caro para aquisição (HEAD e DYSON, 2001).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este Experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Brasília (CEUA/UnB) sob protocolo SEI nº 23106059038/2022-20.

4.1 Delineamento Experimental

Foram coletadas amostras de sangue (10 mL) de 15 equinos (5-30 anos) no Hospital Veterinário de Grandes Animais da UnB. Após a admissão dos pacientes, foi realizada anamnese e exame clínico completo. Destes animais, 5 faziam parte do rebanho do HVet, sem complicações clínicas e foram considerados hígidos. Os outros 10 (Tabela 2), apresentavam algum tipo de afecção, sendo elas de manifestação aguda e preexistentes. O critério de inclusão para animais enfermos consistiu na condição clínica do paciente e o motivo da admissão. 11 animais eram machos e 4 eram fêmeas.

Tabela 2- Diagnósticos dos pacientes enfermos (n=10) que receberam atendimento clinico-cirúrgico no Hvet Grandes da UnB (Brasília, 2022).

<i>Inflamação</i>	Paciente	Diagnóstico
<i>Aguda</i>	1	Cólica Clínica
	2	Cólica Cirúrgica
	3	Cólica Cirúrgica
	4	Cólica Cirúrgica
	5	Cólica Cirúrgica
<i>Crônica</i>	6	Fratura de pelve
	7	Otite
	8	Linfangite
	9	Trauma e broca
	10	Edema peitoral e broca

Procedeu-se a colheita de sangue por venopunção jugular, em tubos com (EDTA), refrigerados até o início das análises laboratoriais. As amostras foram analisadas no Laboratório do Hospital Veterinário de Grandes Animais da UnB. Amostras seriadas foram colhidas, três horas após admissão (momento 0) e 12, 24 e 48 horas após (momento 1, 2 e 3, respectivamente), conforme fluxograma abaixo (Figura 3).

Após exame clínico registrou-se imagem termográfica de cada animal, por meio de termógrafo modelo T420 (FLIR®) e a demarcação das áreas para registro das temperaturas de interesse foi feita com uso do software Flir Tools® (v5.13, FLIR Systems). As imagens focaram nas carúnculas oculares (canto medial do olho) e região do cilhadouro (lado direito) de cada animal (Figura 4 e 5, respectivamente).

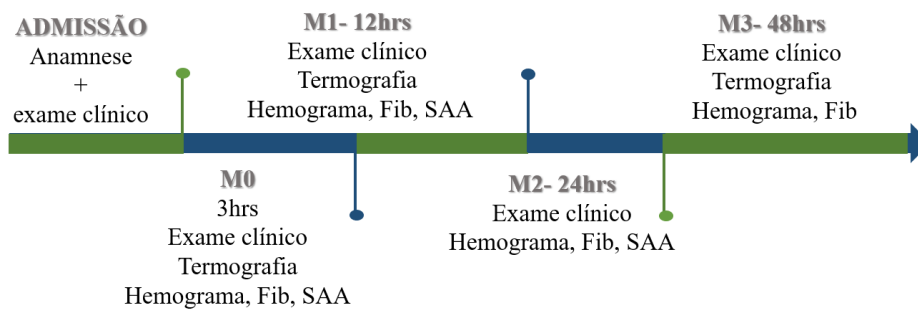


Figura 3- Fluxograma para a colheita de amostras.

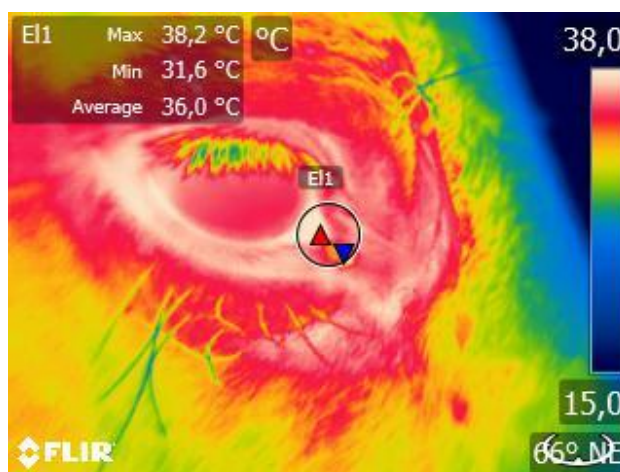


Figura 4. Imagem termográfica da carúncula lacrimal (canto medial do olho direito), delimitada pelo círculo. Triângulo vermelho, temperatura máxima, triângulo azul, mínima.

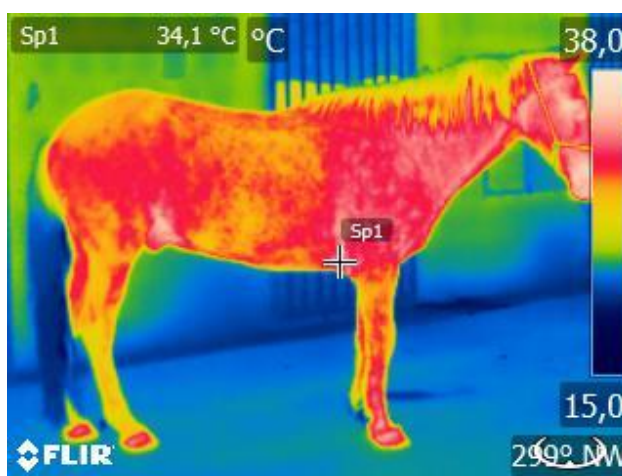


Figura 5- Imagem termográfica lateral do cilhadoiro direito. A região de Sp1 (ligeiramente caudal ao olécrano) foi o ponto escolhido para determinação de temperatura.

Os exames laboratoriais compreenderam a determinação de SAA, fibrinogênio e hemograma.

O hemograma (contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, concentração da hemoglobina corpuscular média e leucócitos totais) foi determinado por meio do contador hematológico veterinário Poch 100iv Diff® (Roche). A concentração de fibrinogênio (mg/dL) foi determinada pela técnica de precipitação térmica, descrita por Schalm (1970).

As concentrações de SAA foram mensuradas através de imunocromatografia (StableLab-Zoetis®), de acordo com as instruções do fabricante. O teste foi validado pelo fabricante e a precisão e exatidão foram determinadas como 98,6% e 95,6%, respectivamente. Em uma validação preliminar recente da precisão analítica do teste imunoenensaio de fluxo lateral, este ensaio mostrou boa linearidade entre 0 e 2.000 mg/L com boa concordância com um imunoenensaio turbidimétrico (Eiken, Tóquio, Japão). A faixa de detecção para o teste era de 0 a 3.000 mg/L.

4.2 Análise Estatística

Todas as análises foram feitas no software R de computação estatística, considerando o nível de significância de 5%. Medidas laboratoriais foram representadas pela média e desvio padrão, descritas para cada grupo em cada momento de coleta. Para identificar diferenças entre os grupos e ao longo do tempo, foram utilizados, para cada variável, modelos de regressão linear de efeitos mistos, com intercepto aleatório para cada indivíduo, assim levando em consideração a correlação presente entre observações do mesmo indivíduo em momentos diferentes. Foi considerada também uma estrutura de erros heterocedástica, de modo que cada grupo teve sua variabilidade estimada separadamente. Foram utilizadas como covariáveis o grupo, o tempo em escala de 12h (cada unidade de tempo representa 12h) e a interação entre os dois. Para quantificar a associação entre os valores de diferentes variáveis, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das variáveis estudadas estão apresentados na Tabela 3. Não foram consideradas avaliações termográficas no M2 (24hrs), devido a maioria dos animais se encontrarem em período pós-operatório. Não realizou-se determinações para concentrações séricas de Amiloide A no momento 3 (48hrs).

Tabela 3- Valores médios (desvio padrão) das variáveis fisiológicas e hematimétricas e termográficas de equinos hígidos (n=5) e enfermos (n=10), durante período experimental no Hvet Grandes da UnB (Brasília, 2022).

Variável	Intervalo de referência	Controle				Enfermo			
		M0	M1	M2	M3	M0	M1	M2	M3
VG (%)	32-53 ¹	33,66 (3,78)	37,4 (3,36)	34,98 (3,81)	33,9 (2,17)	32,88 (6,2)	33,51 (7,1)	31,97 (5,65)	28,84 (6,42)
Hem (x10 ⁶ /μL)	6,8-12,9 ¹	6,86 (0,42)	7,51 (0,71)	7,24 (0,9)	7,06 (0,62)	6,66 (1,18)	6,82 (1,47)	6,31 (1,23)	5,67 (1,61)
Hg (g/dL)	11-19 ¹	12,42 (1,45)	13,6 (1,54)	13,12 (1,32)	12,72 (0,5)	12,26 (2,3)	12,66 (2,73)	11,99 (2,1)	10,91 (2,65)
VCM (fl)	37-58,5 ¹	49,18 (2,67)	49,32 (2,55)	48,08 (2,34)	49,02 (2,54)	46,69 (1,8)	49,59 (1,95)	50,23 (2,16)	51,2 (2,18)
CHMC (%)	31-38,6 ¹	36,74 (0,67)	36,68 (0,56)	37,06 (0,96)	36,88 (0,93)	36,98 (0,7)	37,44 (0,84)	37,99 (1,23)	38,04 (1,24)
HCM (pg)	12,3-19,9 ¹	18,08 (1,26)	18,1 (1,12)	18,18 (1,32)	18,08 (1,32)	18,37 (0,76)	18,58 (0,74)	19,02 (1,23)	19,5 (1,39)
LT (x10 ³ /μL)	5400-14300 ¹	8,62 (1,6)	9,78 (2,26)	9,12 (2,48)	8,4 (1,79)	10,01 (2,99)	8,7 (4,85)	9,95 (5,19)	9,35 (2,92)
Fb (mg/dL)	100-400 ¹	420 (449,44)	320 (109,54)	360 (167,33)	320 (109,54)	520 (301,1)	420 (198,89)	540 (134,99)	600 (133,33)
SAA (μg/mL)	0-20 ²	10,2 (9,63)	3,8 (6,87)	5,8 (8,14)	-	444,5 (735,9)	589,3 (716,85)	999,1 (905,88)	-
FC (bpm)	28-44 ³	41,6 (15,12)	43 (8,43)	42,4 (14,03)	40,8 (11,45)	55,78 (15,37)	46,6 (8,75)	52,6 (15,14)	45,8 (7,8)
FR (mrm)	8-16 ³	24 (8)	19,2 (8,67)	19,2 (7,69)	18,6 (3,97)	23,67 (8,6)	17,6 (5,32)	23,4 (10,67)	18,4 (7,59)
TR (°C)	37,5-38,5 ³	37,06 (1,31)	37,42 (0,76)	37,3 (1,34)	37,62 (0,47)	37,61 (0,61)	37,59 (0,78)	37,93 (0,901)	37,56 (0,76)
Termo 1 (°C)	35,4 ⁴	35,74 (0,83)	32,54 (2,17)	-	32,72 (4,79)	35,38 (2,36)	34,83 (1,55)	-	34,27 (3,72)
Termo 2 (°C)	34,8 ⁵	30,88 (2,23)	29,6 (2,29)	-	28,77 (2,96)	32,67 (2,25)	29,32 (3,23)	-	31,14 (3,74)

M0: 3hrs após a admissão; M1: 12 hrs após M0; M2: 24hrs após; M3: 48hrs após M0; VG= Volume globular; Hem= Hemácias; Hg= Hemoglobina; VCM= Volume Cospuscular Médio; CHCM= Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; HCM= Hemoglobina Cospuscular Média; LT=

Leucócitos Totais; Fb= Fibrinogênio; SAA= Amiloide A Sérica; FC= frequência cardíaca; FR= frequência respiratória; TR= Temperatura retal; Termo 1= temperatura de carúncula lacrimal direita; Termo 2= Temperatura do cilhado direito. Em negrito os momentos que apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparados à primeira colheita (M0); ¹= Feldman et al. (2000); ²= StableLab, Zoetis (2022); ³= Feitosa (2020); ⁴= Trindade et al. (2019); ⁵= Moura et al. (2011).

Neste estudo, as concentrações de biomarcadores da inflamação associados com a avaliação termográfica de carúncula lacrimal e região do codilho foram quantificadas em pacientes após 3 horas de admissão hospitalar e durante as primeiras 48 horas de internação. Avaliações realizadas em momentos únicos, como na maioria dos trabalhos publicados (HOOIJBERG et al., 2014; CHRISTENSEN et al., 2012; BERG et al., 2011), podem não detectar o período de elevação da concentração dos marcadores inflamatórios. Portanto, a metodologia instituída, corrobora Westerman e colaboradores (2015), que sugeriram que as proteínas de fase aguda têm mais utilidade em análises seriadas em cavalos com condições inflamatórias.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos e ao longo do tempo para as variáveis VG, Hemoglobina, CHCM, LT, Fb, FC, FR, temperatura retal e as avaliações termográficas (Termo 1 e 2). Apesar de não haver diferença estatística, os valores de FC, FR e temperatura retal foram maiores no grupo dos enfermos quando comparados aos hígidos. Pelo fato destas variáveis serem alteradas por quadros de dor, hipovolemia, endotoxemia, desidratação (FAGLIARI et al., 2018), estresse e temperamento dos cavalos (GONTIJO et al., 2018), pode-se avaliar variações tanto em animais enfermos, quanto hígidos. Os corticosteroides, exógenos, quando apresentam sua secreção aumentada em quadros de estresse, causam alterações no leucograma (SILVA et al., 2008). Com o objetivo de avaliar o nível de estresse em equinos submetidos a transporte rodoviário, Conte Junior (2014) verificaram que, no desembarque, os equinos apresentaram leucocitose. Casella et al., (2012) relataram que SAA e leucócitos totais podem ser considerados biomarcadores úteis para melhora de condições de transporte de equinos. Nesse sentido, o presente estudo buscou coletar amostras sanguíneas após 3 horas de admissão dos pacientes no HVET, para minimizar os efeitos de transporte sobre os marcadores.

Para SAA, não foi identificada diferença entre os grupos no primeiro momento da coleta. Enquanto o grupo controle permaneceu estável ao longo do tempo ($p= 0,009$), o grupo de indivíduos enfermos teve aumento médio de 279,5 unidades a cada 12 horas (Figura 6).

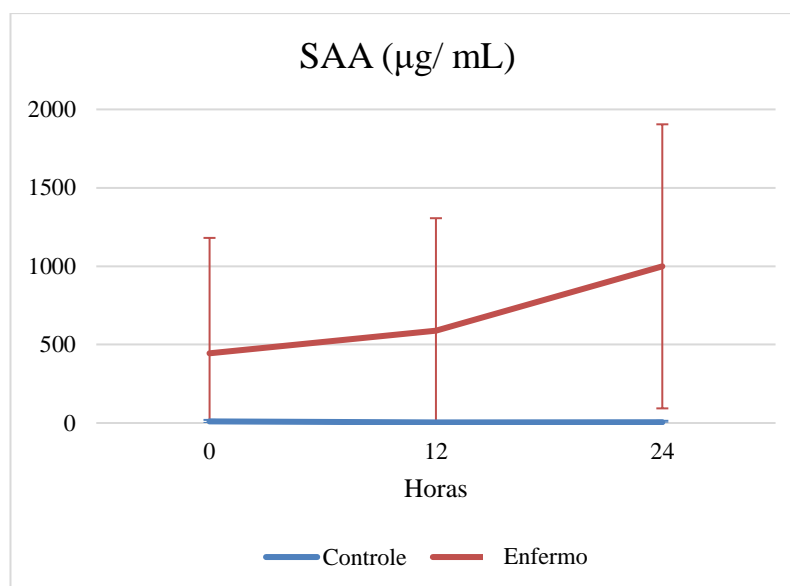


Figura 6. Representação gráfica das concentrações de SAA em animais enfermos e hígidos ao longo do tempo experimental.

A resposta inflamatória mediada pelas proteínas de fase aguda, SAA e Fb, foi alterada somente no grupo dos animais enfermos, assim como relatado por Belgrave (2013), que encontrou diferença significativa entre o grupo de animais hígidos e grupo de enfermos. Conforme sugerido pelo fabricante (StableLab-Zoetis[®]), todos os pacientes considerados hígidos (grupo controle), não ultrapassaram as dosagens de 20 µG/mL para concentrações de SAA, como se observa na Figura 6, respeitando os limites de valores de referência (LONG e NOLEN-WALSTON, 2020; CYWIŃSKA et al., 2010). De acordo com Borges et al. (2007), não foram observadas alterações significativas nas dosagens de LT e Fb, provavelmente devido ao curso natural das enfermidades e tratamentos pré-estabelecidos antes da admissão dos pacientes no hospital.

Estudos com a utilização de proteínas de fase aguda como marcadores da inflamação tem sido relatados em humanos (MALLE et al., 1997) e na medicina veterinária (GABAY e KUSHNER, 1999; HULTÉN et al., 1999; HULTÉN et al., 1997; HUSEBEKK et al., 1986). Muitas pesquisas sobre a resposta de SAA equina e o uso clínico foram conduzidas na última década. A elevação da SAA foi relacionada a adiposidade na crista do pescoço (AMARAL et al., 2017), alterações metabólicas (FUENTES-ROMERO et al., 2022), exercício intenso (ARFUSO et al., 2020), quadros infecciosos em potros (MCCRACKEN, 2019; PASSAMONTI et al., 2015; HULTÉN e DEMMERS, 2002), artrites (LUDWYIG et al., 2016; HULTEN et al. 2002), quadros de herpesvíroses tipo 1 (PUSTERLA et al., 2021) e enteropatias proliferativas (PUSTERLA et al., 2020).

Observa-se também que existem vários estudos de dosagens de SAA com diferentes

metodologias, validação de testes de humanos em cavalos, formas e período de armazenamento de amostras e para enfermidade específicas (DI FILIPPO et al., 2020; JACOBSEN et al., 2019; DONDI et al., 2015; HILLSTRÖM et al., 2010; JACOBSEN et al., 2008).

Jacobsen (2022), ressaltou que, a maioria dos estudos publicados envolvem um número relativamente baixo de animais, e para obter evidências para o uso de SAA, o número amostral deve ser maior. Espera-se que a utilização de testes de imunocromatografia possam se tornar mais acessíveis financeiramente, permitindo que as condições dos tutores e pacientes sejam beneficiadas. Estudos utilizando imunoensaio de fluxo lateral já estão sendo desenvolvidos, como de Middlebrooks et al. (2022), e Oertly et al. (2021). Dois importantes estudos, Karam et al. (2020) e Schwartz et al. (2018), validaram o referido teste em equinos e sua aplicabilidade na rotina clínico-cirúrgica.

Segundo Campbell (1981), em equinos as mudanças na contagem total ou diferencial dos leucócitos em resposta aos processos infecciosos ou toxico-infecciosos não são tão intensas como as observadas em cães, em virtude, sobretudo, do pequeno estoque de granulócitos na medula óssea dos equinos. Os resultados compactuam com as observações realizadas por Céron et al. (2008), que afirmaram que as PFA (SAA e fibrinogênio) são mais sensíveis do que contagem de leucócitos para avaliar o estado inflamatório do paciente.

Concentrações das principais PFA, como SAA, normalmente aumentam muito rapidamente na resposta inflamatória (6 a 12 horas, com pico de 48 horas) e diminuem com a resolução do processo da doença (BELGRAVE et al., 2013). O estímulo à síntese de fibrinogênio ocorre de forma mais lenta, sendo os valores máximos obtidos entre dois a cinco dias (DI FILIPPO et al., 2009).

Na análise estratificada dos animais enfermos (n=10), percebeu-se que aqueles admitidos com relato de afecção clínica aguda (n=5) apresentaram valores médios de fibrinogênio inferiores, em todos os momentos, quando comparados aos animais de afecções crônicas (Tabela 4). Em relação aos valores de SAA para os mesmos animais, foi notado elevação significativa no decorrer dos momentos de colheita (Tabela 5). Apesar de elevados, os animais com afecções crônicas revelaram estabilidade dos valores de SAA, durante todo o experimento. Tais resultados corroboram os estudos citados.

Tabela 4. Valores médios de Fb (mg/dL) em pacientes enfermos com inflamação aguda e crônica, ao decorrer do tempo experimental.

Inflamação aguda	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Média
Fb M0	1200	400	200	200	200	440
Fb M1	600	200	200	200	200	280
Fb M2	600	400	600	400	400	480

Fb M3	600	600	400	400	600	520
Inflamação crônica	Paciente 6	Paciente 7	Paciente 8	Paciente 9	Paciente 10	Média
Fb M0	600	600	600	600	600	600
Fb M1	400	600	600	600	600	560
Fb M2	600	400	800	600	600	600
Fb M3	400	600	800	800	600	640

Tabela 5. Valores médios de SAA ($\mu\text{G/mL}$) em pacientes enfermos com inflamação aguda e crônica, ao decorrer do tempo experimental.

Inflamação aguda	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Média
SAA M0	156	18	197	0	16	77,4
SAA M1	209	209	551	52	181	240,4
SAA M2	245	1637	1608	1449	738	1135,4
Inflamação crônica	Paciente 6	Paciente 7	Paciente 8	Paciente 9	Paciente 10	Média
SAA M0	0	55	2263	1142	598	811,6
SAA M1	22	62	2159	1156	1292	938,2
SAA M2	15	41	2908	556	794	862,8

Em quadros de síndrome cólica, os animais podem apresentar sinais clínico-patológicos de inflamação sistêmica. No experimento de Copas e colaboradores (2013), foi observado aumentos significativos de SAA e fibrinogênio. As concentrações de fibrinogênio dos animais enfermos no presente estudo, revelaram valores crescentes a partir da admissão, embora dentro do intervalo de referência considerado fisiológico para espécie.

As imagens termográficas foram realizadas de acordo com o trabalho de Trindade e colaboradores (2019) para carúncula lacrimal, e Moura et al. (2011), para região do cilhadouro (codilho). Ambas regiões por serem mais vascularizadas, permitem uma melhor avaliação da termorregulação corporal. Existem poucos relatos na literatura de correlação de termografia infravermelha com marcadores inflamatórios em equinos enfermos, sendo encontrado correlação com lactato em animais atletas (WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ et al., 2020). Brunner e colaboradores (2020), em um modelo de indução de claudicação em equinos, concluíram que a inflamação avaliada por biomarcadores inflamatórios (PGE_2 , SAA) e por meio da termografia no modelo proposto não apresentou variações, sugerindo se tratar de estímulo álgico e não inflamatório. Em um estudo em vacas leiteiras, a termografia infravermelha como teste de triagem de gestação revelou melhor acurácia que avaliações de temperatura retal (MACMILLAN et al., 2019), porém sem alterações significativas.

Para avaliar a associação entre as medidas de leucócitos totais, fibrinogênio e SAA em cada momento da coleta foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman, onde percebeu-se correlação positiva entre o fibrinogênio e as outras duas variáveis apenas no primeiro

momento (M0) de coleta, conforme revelado na Tabela 6. Entretanto, o reduzido número amostral do presente trabalho pode ter comprometido a confiabilidade dessas informações.

Tabela 6- Correlação de Spearman entre os biomarcadores da inflamação (leucócitos totais, SAA e fibrinogênio).

Momento da Coleta	Variáveis Correlacionadas	Coefficiente de Correlação de Spearman	p-valor
M0	Leucócitos Totais x Fibrinogênio	0,549	0,034
	Fibrinogênio x SAA	0,574	0,025
	SAA x Leucócitos Totais	0,217	0,438
M1	Leucócitos Totais x Fibrinogênio	0,319	0,246
	Fibrinogênio x SAA	0,446	0,095
	SAA x Leucócitos Totais	-0,141	0,617
M2	Leucócitos Totais x Fibrinogênio	0,122	0,663
	Fibrinogênio x SAA	0,378	0,165
	SAA x Leucócitos Totais	-0,263	0,349
M3	Leucócitos Totais x Fibrinogênio	0,407	0,132

M0= 3hrs após a admissão; M1: 12 hrs após; M2: 24hrs após; M3: 48hrs após M0; SAA= Amiloide A Sérica; Estão marcados em negrito os momentos que apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$).

Para as hemácias, o efeito da interação foi o único significativo ($p= 0,029$), indicando que no início da coleta não havia diferença entre os grupos, e enquanto para o grupo controle não foi identificada mudança ao longo do tempo, para o grupo doente a cada 12h da primeira coleta os valores de hemácias diminuíram, em média, 0,285 unidades, ficando sempre abaixo da média do grupo controle (Figura 7).

Para a variável VCM, foi significativo apenas o efeito da interação entre tempo e grupo ($p=0,005$), indicando que no início da coleta não havia diferença entre os grupos, mas que a cada 12 horas as medidas do grupo doente aumentaram, em média, 0,468 unidades, enquanto o grupo controle permaneceu estável (Figura 8).

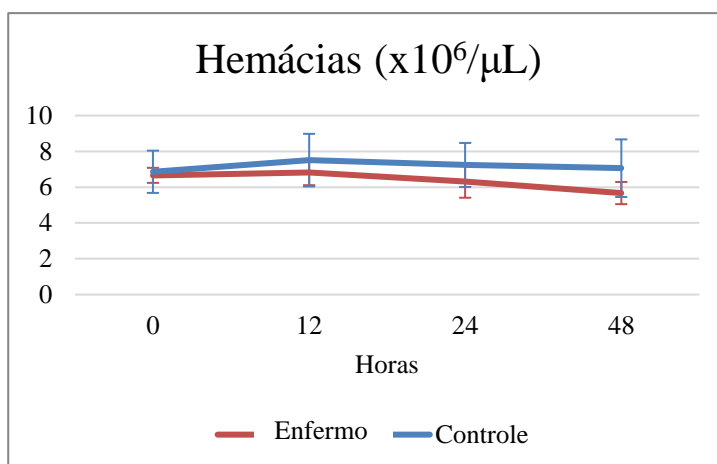


Figura 7- Representação gráfica das concentrações de hemácias em animais enfermos e hígidos (controle) ao longo do tempo experimental.

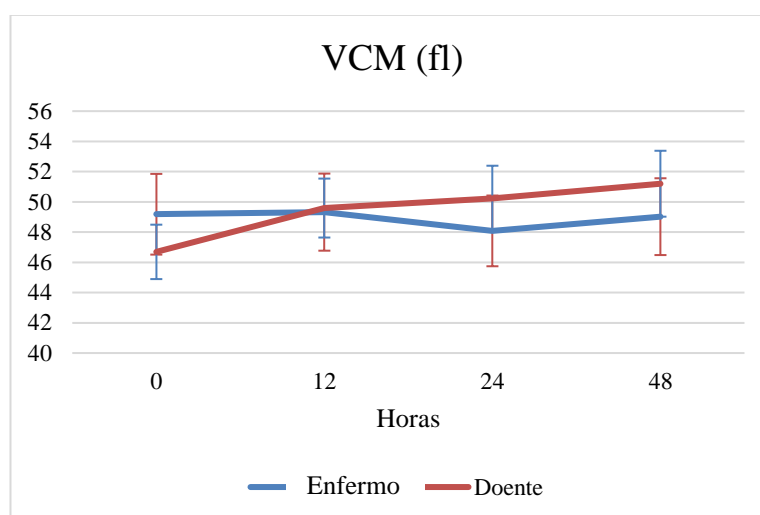


Figura 8. Representação gráfica das concentrações de VCM em animais enfermos e hígidos ao longo do tempo experimental.

Para a variável HCM, não foi significativa a diferença entre os dois grupos no primeiro momento de coleta, mas a interação significativa ($p=0,002$) indica que, enquanto o grupo controle permaneceu estável, o grupo de indivíduos enfermos teve aumento médio de 0,297 unidades ao longo do tempo (Figura 9).

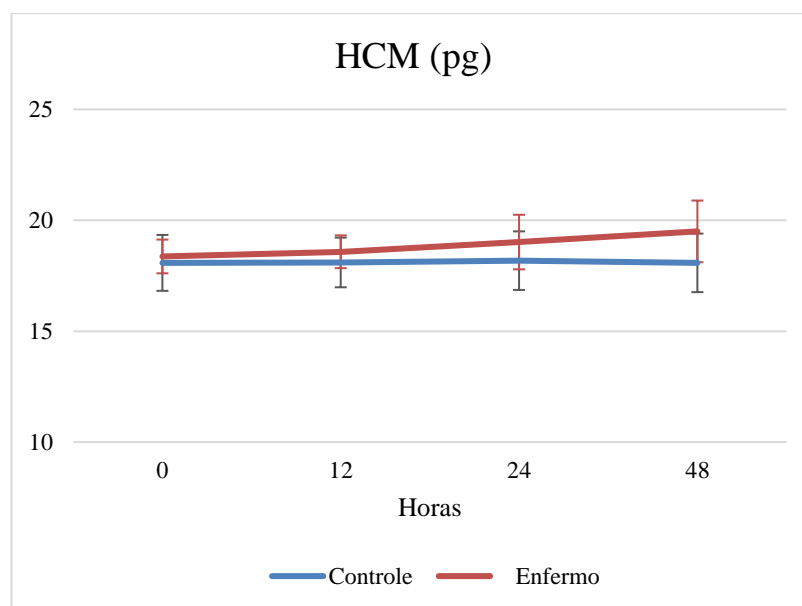


Figura 9- Representação gráfica das concentrações de HCM em animais enfermos e hígidos ao longo do tempo experimental.

Alterações hematológicas significativas foram observadas somente em animais enfermos. Apesar de se notar aumento de VCM (Figura 8) e HCM (Figura 9), os valores ainda se encontraram dentro dos parâmetros de referência (FELDMAN et al., 2000). Já a redução significativa da contagem de hemácias (Figura 7), ocorreu em animais enfermos, provavelmente em decorrência do tratamento clínico instituído durante internação.

6 CONCLUSÃO

Nas condições do presente estudo, a determinação de SAA teve importância na avaliação da inflamação sistêmica nos animais enfermos, mesmo que submetidos à tratamentos clínicos e cirúrgicos em ambiente hospitalar. Contudo, a termografia não se revelou método viável para detecção de inflamação sistêmica em equinos. A utilização de imunoensaio de fluxo lateral para quantificar concentrações de SAA foi de fácil aplicabilidade clínica. Entretanto, o reduzido número amostral, revelou-se fator limitante para afirmações mais precisas em relação aos biomarcadores.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**, 9º ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2022. p. 56-94.

AITKEN, M. R.; STEFANOVSKI, D.; SOUTHWOOD, L. L. Serum amyloid A concentration in postoperative colic horses and its association with postoperative complications. **Veterinary Surgery**, v. 48, n. 2, p. 143-151, 2019.

AMARAL, L.; MARCHIORI, M.; MORAES, B. S.; FINGER, I.; SANTOS, R.; NOGUEIRA, C. E. W. Relação entre adiposidade, perfil energético, proteínas inflamatórias e lesões osteoarticulares em equinos jovens sobre diferentes sistemas de criação. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 115-120, 2017.

ARFUSO, F.; GIANNETTO, C.; FAZIO, F.; PANZERA, F.; PICCIONE, G. Training program intensity induces an acute phase response in clinically healthy horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 88, p. 102986, 2020.

AUER, NG; JC, T. H. L, INGLIS, S. S. A.A. Acute phase response in horses: changes in plasma cation concentrations after localised tissue injury. **The Veterinary Record**, v. 124, p. 235-239, 1989.

BADOLATO, R.; WANG, J. M.; STORNELLO, S. L.; PONZI, A. N.; DUSE, M; MUSSO, T. Serum amyloid A is an activator of PMN antimicrobial functions: induction of degranulation, phagocytosis, and enhancement of anti-Candida activity. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 67, n. 3, p. 381-386, 2000.

BARR, B.; NIEMAN, N. M. Serum amyloid A as an aid in diagnosing sepsis in equine neonates. **Equine Veterinary Journal**, v. 54, n. 5, p. 922-926, 2022.

BARROS, C. J. G. **Piroplasmose Equina: Diagnóstico Molecular e Avaliação de Alterações Hematológicas e de Biomarcadores Inflamatórios em Cavalos com Doença Clínica e Subclínica**. Portugal: Universidade de Lisboa. 2018. 88 p. Tese de Doutorado.

BELGRAVE, R. L.; DICKEY, M. M.; ARHEART, K. L.; CRAY, C. Assessment of serum amyloid A testing of horses and its clinical application in a specialized equine practice. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 243, n. 1, p. 113-119, 2013.

BERG, L. C.; THOMSEN, P. D.; ANDERSEN, P. H; JENSEN, H. E.; JACOBSEN, S. Serum amyloid A is expressed in histologically normal tissues from horses and cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 144, n. 1-2, p.

155-159, 2011.

BORGES, A. S.; DIVERS, T. J.; STOKOL, T.; MOHAMMED, O. H. Serum iron and plasma fibrinogen concentrations as indicators of systemic inflammatory diseases in horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 3, p. 489-494, 2007.

BRUNNER, T. J.; LESCUN, T. B.; MOORE, G. E.; GRADY, S. E.; DAVERN, A. J.; TAYLOR, S. D. Induction of Noninflammatory Pain in an Experimental Foot Lameness Model in Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 87, p. 102925, 2020.

CAMPBELL, M.D.; BELLAMY, J.E.C.; SEARCY, G.P. Determination of plasma fibrinogen concentration in the horse. **American Journal of Veterinary Research**, v. 42, p. 100-104. 1981.

CARVALHO FILHO, W. P. **Proteínas de fase aguda e sua relação com biomarcadores de atividade muscular de equinos submetidos a evento de hipismo clássico**. Universidade Federal de Viçosa: Viçosa. 2017. 54p. Dissertação de mestrado.

CARVALHO FILHO, W. P.; FONSECA, L. A.; GIRADI, F.M.; BENTO, L. D.; SOUTO, P. C.; OROZCO, A. M. O. Serum amyloid A and muscle activity biomarkers in horses submitted to equestrian show jumping. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, p. 668-671, 2019.

CARVALHO FILHO, W. P.; GIRARDI, F. M.; SOUTO, P. C.; OROZCO, A. M. O.; OLIVEIRA, T. Profile of Acute-Phase Proteins of Horses Submitted to Low-Level Show Jumping Classes. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 91, p. 103105, 2020.

CASELLA, S.; FAZIO, F.; GIANNETTO, C.; GIUDICE, E.; PICCIONE, G. Influence of transportation on serum concentrations of acute phase proteins in horse. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 2, p. 914-917, 2012.

CERÓN, J. J.; OHNO, K.; CALDIN, M. A seven-point plan for acute phase protein interpretation in companion animals. **The Veterinary Journal**, v. 1, n. 177, p. 6-7, 2008.

CHRISTENSEN, M.; ICHIYANAGI, T.; KJELGAARD-HANSEN, M. Evaluation of an automated assay based on monoclonal anti-human serum amyloid A (SAA) antibodies for measurement of canine, feline, and equine SAA. **The Veterinary Journal**, v. 194, n. 3, p. 332-337, 2012.

COLES, E.H. **Patologia clínica veterinária**. 3 ed. São Paulo: Malone. p.566. 1984.

CONCEIÇÃO, F. F. C. B.; MATTOS, B. H. V.; SÁ, P. A.; MARÇOLA, T. G.;

SILVA, G. A.; TEIXEIRA, H. C. A.; CAMPEBELL, R. C. Hematological and biochemical values in Breton breed horses in Brasília-DF. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 44, 2022.

CONTE JUNIOR, F.. **Estresse em equinos submetidos ao transporte rodoviário**. Palotina: Universidade Federal do Paraná, 2014. 15 p. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal.

COPAS, V. E. N.; DURHAM, A. E.; STRATFORD, C. H.; MCGORUM, B. C.; WAGGETT, B.; PIRIE, R. S. In equine grass sickness, serum amyloid A and fibrinogen are elevated, and can aid differential diagnosis from non-inflammatory causes of colic. **Veterinary Record**, v. 172, n. 15, p. 395-395, 2013.

COTRAN, R.S, KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Robbins pathologic basis of disease**. 4th ed. Philadelphia: Saunders. 1200p. 1989.

CRAY, C.; ZAIAS, J.; ALTMAN, N. H. Acute phase response in animals: a review. **Comparative medicine**, v. 59, n. 6, p. 517-526, 2009.

CRISMAN, M. V.; SCARRATT, W. K.; ZIMMERMAN, K. L. Blood proteins and inflammation in the horse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 24, n. 2, p. 285-297, 2008.

CYWIŃSKA, A.; SZARKA, E.; GÓRECKA, R.; WITKOWSKI, L.; HECOLD, M.; BEREZNOWSKI, A.; SCHOLLENGERBER, A.; WINNICKA, A. Acute phase protein concentrations after limited distance and long distance endurance rides in horses. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 3, p. 1402-1406, 2012.

DE COZAR, M.; SHERLOCK, C.; KNOWLES, E.; MAIR, T. Serum amyloid A and plasma fibrinogen concentrations in horses following emergency exploratory celiotomy. **Equine Veterinary Journal**, v. 52, n. 1, p. 59-66, 2020.

DI FILIPPO, P. A. D.; RIBEIRO, L. M. F.; MEIRELES, M. A. D.; LANNES, S. T.; MELLO, L. M.; GOBBI, F. P.; TOLEDO, L. F. A.; LESSA, D. A. B. ELISA of amyloid A in paired bronchoalveolar lavage fluid and serum samples of healthy horses. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, p. 381-384, 2020.

DI FILIPPO, P. A.; SANTANA, A. E.; REZENDE, L. G. Estudo comparativo entre as técnicas de schalm e de clauss na determinação da concentração plasmática do fibrinogênio em equinos hígdos e com cólica. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1231-1236, 2009.

DODDS, W.J. Hemostasis. In: KANEKO, J.J., HARVEY, J.W.;BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press. p. 241-

279, 1997.

DOMINO, M.; BOROWSKA, M.; KOZŁOWSKA, N.; ZDROJKOWSKI, L.; JASINSKI, T. J.; SMYTH, G.; MANSKO, M. Advances in thermal image analysis for the detection of pregnancy in horses using infrared thermography. **Sensors**, v. 22, n. 1, p. 191, 2021.

DONDI, F.; LUKACS, R. M.; GENTILINI, F.; RINNOVATI, R.; SPADARI, A.; ROMAGNOLI, N. Serum amyloid A, haptoglobin, and ferritin in horses with colic: association with common clinicopathological variables and short-term outcome. **The Veterinary Journal**, v. 205, n. 1, p. 50-55, 2015.

ENRIQUEZ, B.; SAMANTA, H. **Evaluación de los niveles de Amiloide sérico A frente al fibrinógeno como biomarcadores de inflamación en equinos**. Quito: Universidad Central do Ecuador. 2018. 56 p. Trabalho de Conclusão de Curso.

EPSTEIN, K. L.; BRAINARD, B. M. An evaluation of the Abaxis VSPPro for the measurement of equine plasma fibrinogen concentrations. **Equine Veterinary Journal**, v. 44, n. 4, p. 449-452, 2012.

FAGLIARI, J. J.; SILVA, S. L.; SILVA, P. C.; PEREIRA, G. T. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de equinos portadores de abdômen agudo e submetidos à laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 2, p. 322-328, 2008.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: A Arte Do Diagnóstico**. 5 ed. Rio de Janeiro: Grupo Gen-Editora Roca Ltda., p. 47- 64. 2020.

FELDMAN, B. V.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C.; SCHALM, O. W. **Schalm's veterinary hematology**. 5th ed. Toronto: Lippincott Williams & Wilkins. 2000. 1146 p.

FUENTES-ROMERO, B.; MUÑOZ-PRIETO, A.; CERÓN, J.J.; MARTÍN-CUERVO, M.; IGLESIAS-GARCÍA, M.; AGUILERA-TEJERO, E.; DÍEZ-CASTRO, E. Measurement of Plasma Resistin Concentrations in Horses with Metabolic and Inflammatory Disorders. **Animals**, v. 12, n. 1, p. 77, 2021.

GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 6, p. 448-454, 1999.

GONTIJO, L. A.; CASSOU, F.; DUARTE, P. C.; LAGO, L. A.; ALVES, G. E. S.; MELO, M. M.; FALEIROS, R. R. Bem-estar em equinos do Jockey Club do Paraná: indicadores clínicos, etológicos e ritmo circadiano do cortisol. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 1720-1725, 2018.

GORDON, D. L.; FOREMAN, J. H.; CONNOLLY, S. L.; SCHNELLE, A. N.;

FAN, T. M.; BARGER, A. M. Acute phase protein concentrations following serial procaine penicillin G injections in horses. **Equine Veterinary Journal**, 2022.

HALTMAYER, E.; SCHWENDENWEIN, I.; LICKA, T. F. Course of serum amyloid A (SAA) plasma concentrations in horses undergoing surgery for injuries penetrating synovial structures, an observational clinical study. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p. 137, 2017.

HANDAGAMA, P.; RAPPOLEE, D.A.; WERB, Z.; LEVIN, J.; BAINTON, D.F. Platelet -granule fibrinogen, albumin, and immunoglobulin G are not synthesized by rat and mouse megakaryocytes. **The Journal of Clinical Investigation**. v. 86, p. 1364-1368, 1990.

HEAD, M. J.; DYSON, S. Talking the temperature of equine thermography. **The Veterinary Journal**, v. 3, n. 162, p. 166-167, 2001.

HILLSTRÖM, A.; TVEDTEN, H.; LILLIEHÖÖK, I. Evaluation of an in-clinic Serum Amyloid A (SAA) assay and assessment of the effects of storage on SAA samples. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 52, n. 1, p. 1-6, 2010.

HOFFMANN, K. L.; WOODK, A. K. W.; GRIFFITHSD, K. A.; EVANSR, D. L.; GILL, R. W.; KIRBY, A. C. Doppler sonographic measurements of arterial blood flow and their repeatability in the equine foot during weight bearing and nonweight bearing. **Research in Veterinary Science**, v. 70, p. 199–203, 2001.

HOOIJBERG, E. H.; HOVEN, R.; TICHY, A; SCHWENDENWEIN, I. Diagnostic and predictive capability of routine laboratory tests for the diagnosis and staging of equine inflammatory disease. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 28, n. 5, p. 1587-1593, 2014.

HULTEN, C.; GRÖNLUND, U.; HIRVONEN, J.; TULAMO, R. M.; SUOMINEN, M. M.; MARHAUG, G.; FORSBERG, M. Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and α 2-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. 7, p. 699-704, 2002.

JACOBSEN, S. et al. Evaluation of a commercially available human serum amyloid A (SAA) turbidometric immunoassay for determination of equine SAA concentrations. **The Veterinary Journal**, v. 172, n. 2, p. 315-319, 2006.

JACOBSEN, S. Use of serum amyloid A in equine medicine and surgery. **Veterinary Clinical Pathology**, 2022.

JACOBSEN, S.; ANDERSEN, P. H. The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. **Equine Veterinary Education**, v. 19, n. 1, p. 38-46, 2007.

JACOBSEN, S.; KJELGAARD-HANSEN, M. Evaluation of a commercially available apparatus for measuring the acute phase protein serum amyloid A in horses. **Veterinary Record**, v. 163, n. 11, p. 327-330, 2008.

JACOBSEN, S.; VINTHER, A. M.; KJELGAARD-HANSEN, M.; NIELSEN, L. N. Validation of an equine serum amyloid A assay with an unusually broad working range. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, p. 1-9, 2019.

KADUNC, et al. Infrared thermography in equine practice. **Veterinarska Stanica**, v. 51, n. 2, p. 109-116, 2020.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinaemias. In: KANEKO, J.J., HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5th ed. San Diego: Academic Press, p.117-138. 1997.

KARAM, B.; HINES, S.; SKIPPER, L.; PUSTERLA, N. Whole-blood validation of a new point-of-care equine serum amyloid A assay. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 94, p. 103222, 2020.

KIEMLE, Julia et al. Comparison of a point-of-care serum amyloid A analyzer frequently used in equine practice with 2 turbidimetric immunoassays used in human and veterinary medicine. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 34, n. 1, p. 42-53, 2022.

LONG, A.; NOLEN-WALSTON, R.. Equine Inflammatory Markers in the Twenty-First Century: A Focus on Serum Amyloid A. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 36, n. 1, p. 147-160, 2020.

LOWE, G. D. O.; RUMLEY, A.; MACKIE, I. J. Plasma fibrinogen. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 41, n. 6, p. 430-440, 2004.

LUDWIG, E. K.; WIESE, R. B.; GRAHAM, M. R.; TYLER, A. J; SETTLAGE, J. M.; WERRE, S. R.; PETESSON-WOLFE, C. S.; KANEVSKY-MULLARKY, I.; DAHLGREN, L. A. Serum and synovial fluid serum amyloid A response in equine models of synovitis and septic arthritis. **Veterinary Surgery**, v. 45, n. 7, p. 859-867, 2016.

MACMILLAN, K.; COLAZO, M. G.; COOK, N. J. Evaluation of infrared thermography compared to rectal temperature to identify illness in early postpartum dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 125, p. 315-322, 2019.

MALLE, E.; BOLLMANN, A.; STEINMETZ, A.; GEMSA, D.; LEIS, H. J.; STATTLER, W. Serum amyloid A (SAA) protein enhances formation of cyclooxygenase metabolites of activated human monocytes. **FEBS Letters**, v. 419, n. 2-3, p. 215-219, 1997.

MASKO, M.; BOROWSKA, M.; DOMINO, M.; JASINSKI, T.; ZDROJKOWSKI, L.; GAJEWSKI, Z. A novel approach to thermographic images analysis of equine thoracolumbar region: The effect of effort and rider's body weight on structural image complexity. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 1, p. 1-12, 2021.

MCCRACKEN, J. L. Evaluation of white blood cell, fibrinogen, serum amyloid A, and ultrasonographic grade to refine a R. equi screening program. In: **Proceedings of the American Association of Equine Practitioners**. 2019. p. 522-530.

MCDONALD, T. L.; LARSON, M. A.; MACK, D. R.; WEBER, A. Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A 3 (M-SAA3) into colostrum. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 83, n. 3-4, p. 203-211, 2001.

MIDDLEBROOKS, B. T.; COWLES, B.; PUSTERLA, N. Investigation of the Use of Serum Amyloid A to Monitor the Health of Recently Imported Horses to the USA. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 111, p. 103887, 2022.

MILLS, P.C.; AUER, D.E.; KRAMER, H.; BARRY, D.; NG, J.C. Effects of inflammation-associated acute-phase response on hepatic and renal indices in the horse. **Australian Veterinary Journal**, v. 76, p.187-194, 1998.

MITTELMAN, N. S.; STEFANOVSKI, D.; JOHNSON, A. L. Utility of C-reactive protein and serum amyloid A in the diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 5, p. 1726-1730, 2018.

MOURA, D. J.; MAIA, A. P. A.; VERCELLINO, R. A.; MEDEIROS, B. B. L.; SARUBBI, J.; GRISKA, P. R. Uso da termografia infravermelha na análise da termorregulação de cavalo em treinamento. **Engenharia Agrícola**, v. 31, p. 23-32, 2011.

NOLEN-WALSTON, D. V. M. How to Interpret Serum Amyloid A Concentrations. **AAEP PROCEEDINGS**, v. 61, 2015.

OERTLY, M.; GERBER, V.; ANHOLD, H.; CHAN, D. S.; PUSTERLA, N. The Accuracy of Serum Amyloid A in Determining Early Inflammation in Horses After Long-Distance Transportation by Air. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 97, p. 103337, 2021.

PASSAMONTI, F.; VARDI, D. M.; STEFANETTI, V.; MARENZONI, M. J.; PRATO, S.; CÉVESE, P.; COLETTI, M.; PEPE, M.; PROIETTI, C.; OLEA-POPELKA, F. Rhodococcus equi pneumonia in foals: an assessment of the early diagnostic value of serum amyloid A and plasma fibrinogen concentrations in equine clinical practice. **The Veterinary Journal**, v. 203, n. 2, p. 211-218, 2015.

PEREIRA, F. E. L. Inflamação. In: BRASILEIRO FILHO, Geraldo. **Bogliolo, patologia**. 10º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 78-118. 2021.

PUSTERLA, N.; BARNUM, S.; HALL, J. A.; MARSHALL-LUND, L. Investigation of the Usefulness of Serum Amyloid A in Supporting the Diagnosis of Equine Proliferative Enteropathy. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 92, p. 103151, 2020.

PUSTERLA, N.; MILLER, S.; ARMSTRONG, W.; FROST, L.; MICHON, C.; LAMBERT, K.; WHITFIELD, S.; COWLES, B. Investigation of The Usefulness of Serum Amyloid A in Characterizing Selected Disease Forms of Equine Herpesvirus-1 Infection. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 104, p. 103699, 2021.

REDAELLI, V.; BERGERO, D.; ZUCCA, E.; FERRUCCI, F.; DAS, L. N. C.; CROSTA, L.; DAS, F. L. Use of Thermography Techniques in Equines: Principles and Applications. **Journal of Equine Veterinary Science**, Volume 34, pp. 345- 350. 2014.

SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROLL, W.J. **Veterinary hematology**. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger., p. 807. 1970.

SCHWARTZ, D.; PUSTERLA, N.; JACOBSEN, S.; CHRISTOPHER, M. M. Analytical validation of a new point-of-care assay for serum amyloid A in horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 50, n. 5, p. 678-683, 2018.

SILVA, R.; ALMEIDA JÚNIOR, G. S.; CURY, J. R. M.; AMARAL, J. B.; LOCATELLI, L.; MATIAS, V. Leucograma de estresse. **Revista Científica Eletrônica Medicina Veterinária**, v. 4, 2008.

SILVA, T.; SOARES, C.; MARIZ, A.; MAIA, T.; PIERRE BARNABÉ, E. Use of Thermography in Clinical and Sports Evaluations of Equine Animals: A review. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, 2022.

SOROKO, M.; HOWELL, K. Infrared Thermography: Current Applications in Equine Medicine. **Journal of Equine Veterinary Science**, Volume 60, pp. 90-96. 2018.

SOROKO, M.; MOREL, M. C. G. **Equine thermography in practice**. Wallingford: CAB International. 117p. 2016.

SOUZA, M. V., DE SOUZA, P. C., DE LIMA RODRIGUES, B., JÚNIOR, J. I. R.; CORDEIRO, R. R. Concentração do fibrinogênio no plasma sanguíneo de equinos da raça mangalarga marchador por diferentes métodos. **Revista Ceres**, v. 53, n. 307, p. 382-386. 2006.

STORMORKEN, H. Species differences of clotting factors in ox, dog, horse, and man. Thrombin and fibrinogen. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 40, p. 167-181. 1957.

TAMZALI, Y.; GUELFY, J. F.; BRAUN, J. P. Plasma fibrinogen measurement in the horse: comparison of Millar's technique with a chronometric technique and the QBC-Vet Autoreader. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 71, n. 3, p. 213-217, 2001.

TEIXEIRA NETO, A. R.; PEREIRA, J. R. M.; SANTOS, A. B.; ALMEIDA, R. M.; DALLAGO, B. S. L. Changes in surface temperature of upper fore and hindlimbs of horses submitted to four beat gait exercise determined by thermography. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, p. 1566-1570, 2020.

TIZARD, I. **Imunologia veterinária**. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 17-24. 2019.

TRINDADE, P. H. E.; FERRAZ, G. C.; LIMA, M. L. P.; NEGRÃO, J. A.; COSTA, M. J. R. P. Eye surface temperature as a potential indicator of physical fitness in ranch horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 75, p. 1-8, 2019.

TUNLEY, B. V.; HENSON, F. M. D. Reliability and repeatability of thermographic examination and the normal thermographic image of the thoracolumbar region in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, p. 306-312. 2004.

TURNER, T. A. Diagnostic Thermography. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 17, p. 95-113. 2001.

VINER, M.; MAZAN, M.; BEDENICE, D.; MAPES, S.; PUSTERLA, N. Comparison of serum amyloid A in horses with infectious and noninfectious respiratory diseases. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 49, p. 11-13, 2017.

WELLES, E. G. Interpretation of Equine Leukocyte Responses. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's veterinary hematology**. 6th ed. Philadelphia: Wiley-Blackwell, p. 314-320. 2010.

WESTERMAN, T.; TORNQUIST, S. J.; FOSTER, C. M.; POULSEN, K. P. Evaluation of serum amyloid A and haptoglobin concentrations as prognostic indicators for horses with inflammatory disease examined at a tertiary care hospital. **American**

Journal of Veterinary Research, v. 76, n. 10, p. 882-888, 2015.

WILK, I.; WNUK-PAWLAK, E.; JANCZAREK, I.; KACZMAREK, B.; DYBCZYNSKA, M.; PRZETACZNIK, M. Distribution of superficial body temperature in horses ridden by two riders with varied body weights. **Animals**, v. 10, n. 2, p. 340, 2020.

WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ, O. D.; ZMIGRODZKA, M.; WINNICKA, A.; MISKIEWICZ, A.; STRZELEC, K.; CYWINSKA, A. Serum amyloid A in equine health and disease. **Equine Veterinary Journal**, v. 51, n. 3, p. 293-298, 2019.

WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ, O.; MASKO, M.; DOMINO, M.; WINNICKA, A. Infrared thermography correlates with lactate concentration in blood during race training in horses. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 2072, 2022

WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ, O.; MASKO, M.; DOMINO, M.; WINNICKA, A. Infrared thermography correlates with lactate concentration in blood during race training in horses. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 2072, 2020.

YANMAZ, L. E.; OKUMUĞ, Z.; DOĞAN, E.; GÖKHAN, M. S. **Basic principles of thermography in horses**. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültes: Ekim. p. 126. 2014. Ulusal veteriner cerrahi kongresi.

YANMAZ, L. E.; OKUMUS, Z.; DOGAN, E. Instrumentation of thermography and its applications in horses. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 6, n. 7, p. 858-62, 2007.