

Teste rápido para detecção da Proteína C-Reativa (FASTest® CRP canino) como auxílio diagnóstico de piometra em cadelas¹

Mhayara S.O. Reusing², Clara A.C. Ponczek², Daniella M. da Silva², Débora M.M.C. Oliveira², Renato S. Sousa², Rosângela L. Dittrich² e Simone D. Guerios^{2*}

ABSTRACT- Reusing M.S.O., Ponczek C.A.C., Silva D.M., Oliveira D.M.M.C., Sousa R.S., Dittrich R.L. & Guerios S.D. 2015. [**Fast test for C-reactive Protein detection (FASTest® CRP canine) as an aid for the diagnosis of pyometra in bitches.**] Teste rápido para detecção da Proteína C-Reativa (FASTest® CRP canino) como auxílio diagnóstico de piometra em cadelas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 35(12):975-979. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários 1540, Curitiba, PR 80035-050, Brazil. E-mail: sdguerios@ufpr.br

Pyometra is a common disease in bitches characterized by an inflamed uterus filled with pus. Abdominal ultrasonographic evaluation is one of the most requested exam used to diagnose the disease, whereas ovariohysterectomy is the most commonly chosen treatment. C-reactive protein (CRP) is an acute phase protein whose serum concentration increases in inflammatory processes. The goal of this study was to evaluate the effectiveness of the rapid test for detecting serum CRP (FASTest® canine CRP) in the diagnosis of pyometra in bitches with suspicion of the disease by ultrasonography. From 25 bitches with ultrasonographic image suggestive of pyometra included in this study, only 12 (48.0%) has the diagnosis confirmed by histopathological examination of the uterus after ovariohysterectomy. In all patients diagnosed with pyometra, confirmed by histology, the CRP was positive. The FASTest® CRP showed a positive predictive value of 92.3 %, negative predictive value and sensitivity of 100.0% and 92.3% of specificity. Therefore, the accuracy of FASTest® CRP for diagnosis of pyometra in bitches with suspicion by ultrasonography was 96.0%. It was concluded that the rapid test for detecting serum CRP can be used as an aid to diagnose pyometra in bitches.

INDEX TERMS: C-reactive Protein detection, dogs, infectious diseases, acute phase proteins, ultrasound, uterus.

RESUMO.- A piometra é uma enfermidade comum em cadelas, caracterizada pela inflamação do útero com acúmulo de exsudato purulento. A avaliação ultrassonográfica abdominal é um dos principais exames utilizados para o diagnóstico da doença e o tratamento de eleição é a ovari-histerectomia (OSH). A proteína C reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda que apresenta concentração sérica aumentada na ocorrência de processos inflamatórios. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia do teste rápido para detecção da PCR sérica (FASTest® CRP canino), como auxiliar no diagnóstico de piometra em cadelas com sus-

peita da doença ao exame ultrassonográfico. Das 25 cadelas com imagem ultrassonográfica sugestiva de piometra incluídas no estudo, apenas 12 (48,0%) tiveram o diagnóstico confirmado por exame histopatológico uterino realizado após a OSH. Em todas as pacientes com o diagnóstico de piometra confirmado pelo exame histológico a PCR foi positiva. O FASTest® CRP apresentou valor preditivo positivo de 92,3%, valor preditivo negativo e sensibilidade de 100,0% e 92,3% de especificidade. Logo, a acurácia do FASTest® CRP canino para diagnóstico de piometra em cadelas com suspeita ao exame ultrassonográfico foi de 96,0%. Conclui-se que o teste rápido para detecção da PCR sérica pode ser utilizado como exame auxiliar para o diagnóstico de piometra em cadelas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Proteína C-Reativa, cães, doenças infecciosas, proteínas de fase aguda, ultrassom, útero.

¹ Recebido em 15 de junho de 2015.

Aceito para publicação em 30 de outubro de 2015.

² Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários 1540, Curitiba, PR 85035-050, Brasil. *Autor para correspondência: sdguerios@gmail.com

INTRODUÇÃO

A piometra caracteriza-se pelo acúmulo de conteúdo purulento na luz uterina devido à infecção do endométrio por bactérias (Sugiura et al. 2004, Smith 2006, Schlafer 2012). Os principais sinais clínicos incluem anorexia, apatia, poliúria, polidipsia, êmese, diarreia, febre ou hipotermia e corrimento vaginal nos casos em que a cérvix encontra-se aberta (Pretzer 2008, Fossum 2013, Jitpean et al. 2014). A avaliação ultrassonográfica abdominal é o exame de imagem mais utilizado para auxiliar no diagnóstico da piometra por meio da observação de distensão do corpo e dos cornos uterinos por conteúdo anecóico ou hipocóico (Zoldag et al. 1992, Bigliard et al. 2004). Pacientes com piometra tipicamente apresentam fluido uterino mais ecogênico em comparação com mucometra e hidrometra, onde o fluido geralmente é anecóico. Entretanto, devido à semelhança na celularidade intrauterina, o exame ultrassonográfico não é capaz de diferenciar tais afecções (Bigliard et al. 2004, Chen et al. 2006, Nelson & Couto 2006). Por conseguinte, exames laboratoriais são utilizados rotineiramente para que, em conjunto, possam auxiliar no diagnóstico de piometra. Frequentemente, observam-se no hemograma alterações indicativas de processo inflamatório e infeccioso, com leucocitose neutrofílica, desvio nuclear de neutrófilos à esquerda e monocitose (Kaymaz et al. 1999, Kaneko et al. 2008, Jitpean et al. 2014).

A piometra, sobretudo nos casos de cérvix fechada, é considerada uma emergência médico-veterinária e a intervenção terapêutica rápida é necessária para evitar a evolução da doença, que pode culminar em óbito. O tratamento mais seguro é o cirúrgico, por meio da OSH, pois promove a remoção imediata do foco de infecção e previne recidivas (Hagman 2012, Fossum 2013). Entre os principais diagnósticos diferenciais de piometra incluem-se mucometra, hemometra e hidrometra. Nestas alterações observa-se distensão uterina por fluidos estéreis que, por si só, não são doenças fatais (Pretzer 2008), tornando o tratamento medicamentoso e não cirúrgico uma opção (Hagman 2012).

A diferenciação de piometra pode se tornar um desafio quando se identifica distensão uterina pela presença de líquido ao exame ultrassonográfico, mas não há corrimento vaginal e a apresentação clínica é obscura (Hagman 2012). A decisão pelo tratamento clínico e pela preservação do potencial reprodutivo pode ser subestimada nestes casos, indicando-se a OSH, sob o risco de tratar-se de piometra, uma condição emergencial. No entanto, a resposta inflamatória é mais pronunciada em casos de piometra quando comparada a outros casos de distensão uterina e pode ser verificada em vários parâmetros laboratoriais, como aumento dos níveis de proteína C reativa (PCR) (Fransson et al. 2004, Dabrowski et al. 2009).

A PCR é a proteína de fase aguda (PFA) mais requisitada na rotina clínica em humanos (Mold et al. 2002, Bassuk et al. 2004, Marsik et al. 2008) e a mais sensível em cães (Yamamoto et al. 1992, Kjelgaard-Hansen 2004, Cerón, Eckersall & Martínez-Subiela 2005). Recentemente, diversos estudos envolvendo dosagem das PFA demonstraram o seu potencial como marcador de inflamação (Cerón, Eckersall & Martínez-Subiela 2005, Dabrowski et al. 2009, Eckersall

& Bell 2010, Khan & Khan 2010, Battisti et al. 2013). Em cadelas com piometra observou-se expressivo aumento da PCR, mesmo em casos sem alterações no leucograma, podendo esta ser utilizada como auxílio no diagnóstico e como fator prognóstico da doença (Fransson et al. 2004, Fransson et al. 2007, Nakamura et al. 2008).

A dosagem da PCR se destaca por trazer resultados rápidos, com baixo custo e praticidade (Battisti et al. 2013). Contudo, a mensuração dessas proteínas requer equipamentos de laboratório especializados e reagentes específicos, o que nem sempre está prontamente disponível ao clínico veterinário. Neste contexto, o uso de dispositivos portáteis como o FASTest® CRP canino (Megacor Diagnostik® Áustria, importado por JMR Trading®, Brasil) para detecção rápida de PCR em sangue total, soro ou plasma de cães, constitui uma opção adequada. Baseado na técnica de imunocromatografia e usando anticorpos monoclonais altamente específicos, o teste detecta, em no máximo 5 minutos, se a concentração plasmática de PCR do paciente está acima ou abaixo de 5 mg/L, o que confirma ou exclui um processo inflamatório, respectivamente (Kjelgaard-Hansen 2004, McGrotty et al. 2004).

O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial da detecção rápida da PCR pelo uso do teste FASTest® CRP canino como auxílio no diagnóstico da piometra em cadelas.

MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e cinco cadelas com diagnóstico presuntivo de piometra, atendidas no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná (HV-UFPR), Curitiba – Paraná, foram incluídas nesse estudo. O diagnóstico presuntivo foi baseado no histórico clínico, no exame físico, no hemograma e no exame ultrassonográfico abdominal, sendo o último considerado o principal critério de inclusão. As alterações ultrassonográficas consideradas indicativas de piometra, mucometra ou hemometra foram aumento no diâmetro uterino com preenchimento do lúmen por conteúdo anecóico ou hipocóico (Bigliardi et al. 2004, Farrow 2006).

Todas as cadelas foram submetidas ao procedimento de OSH. Amostras de sangue para exames pré-operatórios de hemograma e perfis bioquímicos (renal e hepático) foram colhidas, através da venopunção da jugular externa, vinte e quatro horas antes do procedimento cirúrgico. Dessas amostras foram aliqüotados 10µL do sangue total com anticoagulante (ácido etilenodiaminotetracético – EDTA) para instilação no kit FASTest® CRP canino (Diagnostik Megacor®), considerado positivo quando observada uma linha na janela teste, conforme manual do fabricante. O teste baseia-se na técnica de imunocromatografia por fluxo lateral, onde ocorre ligação da PCR a um anticorpo monoclonal anti-PCR altamente específico e, na presença de quantidade significativa da PCR (>5mg/L) na amostra, forma-se uma banda arroxeadada na janela teste conforme o complexo é capturado por outro anticorpo imobilizado. O mesmo ocorre na janela controle positivo, assegurando o correto desempenho do teste.

Após o procedimento de OSH, realizou-se incisão na parede uterina com lâmina de bisturi nº 15 e o conteúdo uterino foi coletado com zaragatoa esterilizada para cultura e identificação bacteriana. As amostras foram semeadas inicialmente em ágar sangue e em meios de cultura seletivos, como ágar manitol e ágar MacConkey, e foram utilizadas provas bioquímicas padrão para identificação bacteriana conforme Quinn et al. (2005). Imediatamente após a coleta de amostra para cultura bacteriana, útero e

ovários foram encaminhados para confirmação do diagnóstico de piometra por exame histopatológico.

Os resultados do FASTest® CRP canino foram analisados quanto à sensibilidade e à especificidade para diagnóstico de piometra em cadelas, comparando-os com o resultado do exame histopatológico, de acordo com Fransson et al. 1997 e Fransson et al. 2004. Os demais dados (sinais clínicos, leucograma e cultura bacteriana) foram avaliados com análise descritiva de porcentagem.

RESULTADOS

O histórico e os sinais clínicos, a contagem de leucócitos totais e as alterações no leucograma, bem como os resultados do FASTest® CRP, cultura bacteriana e exame histopatológico de cada paciente estão detalhados no Quadro 1.

Das 25 cadelas com suspeita de piometra, hemometra ou mucometra ao exame ultrassonográfico, 60,0% (n=15) apresentavam alterações clínicas inespecíficas, porém, sugestivas de piometra, como êmese, polidipsia, inapetência, dor à palpação abdominal, corrimento vaginal ou aumento da temperatura corporal. As demais justificativas que levaram à realização do exame ultrassonográfico em cadelas

sem sinais clínicos sugestivos de piometra, hemometra ou mucometra, foram: pré-requisito para o projeto de extensão de castração da UFPR (n=8), pesquisa de hemorragia interna ou lesões viscerais traumáticas (n=1), e pesquisa de metástase de tumor de mama único, não ulcerado e inferior a 3 cm de diâmetro (n=1).

O diagnóstico de piometra confirmado por exame histopatológico foi de 48,0% (n=12), sendo que 100,0% desses casos apresentavam sinais clínicos associados à doença e 91,7% (n=11), apresentavam alterações no leucograma tais como leucocitose, neutrófilos tóxicos, desvio nuclear de neutrófilos à esquerda, neutrofilia ou neutropenia. Das cadelas que não apresentaram exame histopatológico de piometra (52,0%; n=13), 76,9% (n=10) também não demonstraram sinais clínicos sugestivos da doença e 92,3% (n=12) não apresentaram alterações no leucograma.

A cultura bacteriana uterina foi positiva em 52,0% (n=13) dos casos e negativa em 48,0% (n=12). Dos casos com resultado de cultura bacteriana positivo, 69,2% (n=9) também apresentaram exame histopatológico compatível

Quadro 1. Descrição de histórico e sinais clínicos, leucócitos totais/ μL (LT/ μL), alterações no leucograma, resultados do FASTest® CRP, cultura bacteriana e exame histopatológico uterino em 25 cadelas com suspeita de piometra em exame ultrassonográfico

n	Histórico e sinais clínicos	LT/ μL ^a	Alterações no leucograma	FASTest® CRP	Cultura bacteriana	Exame histopatológico ^b
1	Vômito, polidipsia e inapetência há um mês	33000↑	11% NT, DNNE regenerativo	+	<i>Escherichia coli</i>	+
2	Corrimento vaginal mucoso	11800	Nenhuma	-	<i>Staphylococcus</i> sp.	-
3	Corrimento vaginal purulento há 15 dias	46500↑	Neutrofilia, DNNE regenerativo	+	<i>Escherichia coli</i>	+
4	Nenhum	11700	Nenhuma	-	Negativo	-
5	Dor à palpação abdominal	16000	Nenhuma	-	Negativo	-
6	Nenhum	11200	Nenhuma	-	Negativo	-
7	Corrimento vaginal purulento há 10 dias	15100	Neutrofilia	+	<i>Escherichia coli</i>	+
8	Nenhum	14900	Nenhuma	-	<i>Streptococcus</i> sp.	-
9	Corrimento vaginal purulento há um mês	39000↑	42% NT, DNNE degenerativo	+	Negativo	+
10	Corrimento vaginal purulento há 7 dias	7200	Nenhuma	+	Negativo	+
11	Vômito, inapetência há 15 dias.	16000↑	37% NT, DNNE regenerativo	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+
12	Vômito, polidipsia, corrimento vaginal purulento há 7 dias	37300↑	Neutrofilia, DNNE regenerativo	+	Negativo	+
13	Vômito, inapetência e Corrimento vaginal sanguinolento há 4 dias	24400↑	43% NT, neutrofilia, DNNE regenerativo	+	<i>Escherichia coli</i>	+
14	Corrimento vaginal serossanguinolento há mais de 25 dias	22600↑	Neutrofilia, DNNE regenerativo	+	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	+
15	Vômito, corrimento vaginal purulento há menos de 24 horas; febre (40,1°C)	2800↓	Neutropenia, DNNE regenerativo	+	<i>Morganella</i> sp.	+
16	Corrimento vaginal mucosa há 15 dias	24600↑	Neutrofilia	+	<i>Streptococcus</i> sp.	+
17	Nenhum	11600	Nenhuma	-	Negativo	-
18	Nenhum	13500	Nenhuma	-	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	-
19	Aborto seguido de corrimento vaginal serossanguinolento	15600	Nenhuma	-	<i>Staphylococcus</i> sp.	-
20	Nenhum	6900	Nenhuma	-	Negativo	-
21	Nenhum	13700	Nenhuma	-	Negativo	-
22	Fratura aberta de tibia (atropelamento)	11200	80% NT, DNNE degenerativo	+	Negativo	-
23	Corrimento vaginal fétido há 4 dias	36900↑	50% NT, DNNE regenerativo	+	<i>Escherichia coli</i>	+
24	Nenhum	11400	Nenhuma	-	Negativo	-
25	Nenhum	13100	Nenhuma	-	Negativo	-

^a Valor de referência para leucócitos totais: 6000 a 17000/ μL . NT = Neutrófilos tóxicos; DNNE = Desvio nuclear de neutrófilos à esquerda. ^b Os exames histopatológicos + confirmaram o diagnóstico de piometra, enquanto que os - excluíram a doença.

com piometra e 30,8% (n=4) não tiveram diagnóstico de piometra ao exame histopatológico. Das cadelas que apresentaram cultura bacteriana uterina negativa, 75,0% (n=9) não apresentaram exame histopatológico compatível com piometra, enquanto que 25% (n=3) apresentaram exame histopatológico compatível com a doença.

Comparando-se os resultados obtidos com o FASTest® CRP canino ao exame histopatológico, foram obtidos 12 resultados verdadeiro-positivos (48,0%), 1 falso-positivo (4,0%), 12 verdadeiro-negativos (48,0%) e nenhum falso-negativo (Quadro 2). Os resultados do FASTest® CRP para auxílio no diagnóstico de piometra em cadelas, apresentaram valor preditivo positivo de 92,3%, valor preditivo negativo e sensibilidade de 100,0%, e 92,3% de especificidade. Logo, sua acurácia para diagnóstico de piometra em cadelas com suspeita ao exame ultrassonográfico foi de 96,0%.

Quadro 2. Resultados do FASTest® CRP canino e exame histopatológico de 25 cadelas com suspeita de piometra

FASTest® CRP	Exame histopatológico					
	+		-		Total	
	n	%	n	%	n	%
+	12a	48,0	1b	4,0	13	52,0
-	0c	0	12d	48,0	12	48,0
Total	12	48,0	13	52,0	25	100,0

Sensibilidade relativa = $(a)/(a+c) \times 100 = 12/12 \times 100 = 100,0\%$. Especificidade relativa = $(d)/(b+d) \times 100 = 12/13 \times 100 = 92,3\%$. Valor preditivo positivo = $(a)/(a+b) \times 100 = 12/13 \times 100 = 92,3\%$. Valor preditivo negativo = $(d)/(c+d) \times 100 = 12/12 \times 100 = 100,0\%$. Acurácia = $(a+d)/(a+b+c+d) = 24/25 = 96,0\%$.

DISCUSSÃO

O presente trabalho demonstrou que apenas metade das pacientes com suspeita de piometra ao exame ultrassonográfico apresentaram confirmação do diagnóstico da doença pela histopatologia. Associado ao diagnóstico por imagem, a avaliação da PCR se confirmou um bom auxiliar na decisão de indicação da OSH de urgência nestas pacientes, pois em todos os casos de piometra confirmados pelo exame histopatológico observou-se a positividade da PCR.

Nas culturas de conteúdo uterino em que houve ausência de crescimento bacteriano, ainda que o exame histopatológico e a PCR apontassem um processo inflamatório, acredita-se que a antibioticoterapia foi previamente iniciada ou que o material semeado contivesse substância purulenta com leucócitos mortos e bactérias inviáveis. Estes dois fatores são frequentemente responsáveis por exames microbiológicos falso-negativos (Petti et al. 2008, Vuichard et al. 2011). Não obstante, nas cadelas sem diagnóstico histopatológico de piometra, porém com exame microbiológico positivo, provavelmente ocorreu contaminação do útero removido ou da zaragatoa, uma vez que os gêneros bacterianos semeados nos cultivos em questão são relativos à flora bacteriana presente na pele humana e no ambiente (Quinn et al. 2005, Grice & Segre 2011). A não padronização do método de coleta do material para cultura, bem como a falta de informação sobre administração prévia de antibióticos possivelmente comprometeram os resultados microbiológicos obtidos.

O fato de alguns animais com resultado verdadeiro-positivo apresentarem leucograma normal pode demonstrar a ocorrência de inflamação pouco severa ou tendendo à cronicidade (Willard & Tvedten 2012), o que indica a alta sensibilidade do FASTest® CRP canino em detectar inflamação, da mesma forma que a dosagem laboratorial de PCR por métodos convencionais (Martínez-Subiela et al. 2001, Murata et al. 2003, Fransson et al. 2004, Willard & Tvedten 2012). Em 75% dos casos verdadeiro-positivos houve desvio nuclear de neutrófilos à esquerda, indicando inflamação grave com intensa demanda tecidual (Fransson et al. 2004, Cray & Altman 2009, Tobias & Spencer 2012, Willard & Tvedten 2012).

A única cadela com resultado falso-positivo ao exame da PCR apresentou alterações no leucograma sugestivo de processo inflamatório, sendo sua origem mais provável o trauma tecidual associado a fratura aberta em membro pélvico, decorrente de atropelamento. Neste caso, a ultrassonografia foi requisitada para pesquisa de hemorragia intra-abdominal e, apesar da distensão uterina com diagnóstico ultrassonográfico de piometra, a doença foi excluída no exame histopatológico. Ressalta-se que o clínico veterinário deve estar atento às alterações clínicas concomitantes em todos os pacientes com distensão uterina ao exame ultrassonográfico, mesmo naqueles com leucograma inflamatório e positividade da PCR, para evitar um falso diagnóstico de piometra.

Ademais, a ausência de resultados falso-negativos mostra que é absoluta a probabilidade de um resultado negativo do dispositivo corresponder a um caso negativo da doença. Logo, a utilização do teste como exame auxiliar contribui para exclusão do diagnóstico de piometra, poupando o animal de um procedimento cirúrgico invasivo que inviabilizaria sua capacidade reprodutiva, o que muitas vezes é indesejável, principalmente em se tratando de pacientes de risco ou de cadelas reprodutoras de alto valor comercial.

CONCLUSÃO

O FASTest® CRP canino é um exame extremamente sensível e seguro para a detecção de processos inflamatórios e pode ser utilizado como exame auxiliar no diagnóstico de piometra em cadelas, contribuindo para a decisão de OSH de urgência quando de detecção de distensão uterina no exame ultrassonográfico.

Agradecimentos.- À Megacor Diagnostik pela doação dos cassetes do Teste Rápido para Detecção de PCR em Cães (FASTest® CRP canino), e à Veterinária Preventiva®, Curitiba/PR - Laboratório de Análises, pela realização dos exames de cultura bacteriana para esse trabalho.

Comitê de Ética e Biossegurança.- Esse trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal do Paraná, sob protocolo nº 035/13, de 11 de setembro de 2013.

REFERÊNCIAS

- Bassuk S.S., Rifai N. & Ridker P.M. 2004. High-sensitivity c-reactive protein: clinical importance. *Curr. Problems Cardiol.* 29(8):439-493.
- Bigliardi E., Parmigiani E., Cavirani S., Luppi A., Bonati L. & Corradi A. 2004. Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Reprod. Domest. Anim.* 39(3):136-140.

- Cerón J.J., Eckersall P.D. & Martínez-Subiela S. 2005. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet. Clin. Pathol.* 34(2):85-99.
- Chen Y.M.M., Lee C.S. & Wright P.J. 2006. The roles of progesterone and uterine irritant in the maintenance of cystic endometrial hyperplasia in the canine uterus. *Theriogenology* 66(6/7):1537-1544.
- Cray C., Zaias J. & Altman N.H. 2009. Acute phase response in animals: a review. *Comp. Med.* 59(6):517-526.
- Dabrowski R.K., Lisińska U., Szczybał M. & Krakowski L. 2009. Usefulness of C-reactive protein, serum amyloid A component, and haptoglobin determinations in bitches with pyometra for monitoring early post-ovariohysterectomy complications. *Theriogenology* 72(4):471-476.
- Eckersall P.D. & Bell R. 2010. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet. J.* 185(1):23-27.
- Farrow C.S. 2006. Diagnóstico por Imagem do Cão e do Gato. Roca, São Paulo. 768p.
- Fossum T. 2013. Surgery of reproductive and genital systems, p.818-824. In: *Ibid.* (Ed.), *Small Animal Surgery*. 4th ed. Mosby Elsevier, St Louis.
- Fransson B., Karlstam E., Bergstrom A., Lagerstedt A.S., Park J.S., Evans M.A. & Ragle C.A. 2004. C-reactive protein in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia/mucometra in dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 40:391-339.
- Fransson B.A., Lagerstedt A.-S., Bergstrom A., Hagman R., Park J.S., Chew B.P., Evans M.A. & Ragle C.A. 2007. C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. *J. Vet. Emerg. Critical Care* 17:373-381.
- Fransson B., Lagerstedt A.S., Hellmen E. & Jonsson P. 1997. Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. *Zentralbl. Veterinärmed. A* 44(7):417-426.
- Grice E.A. & Segre J.A. 2011. The skin microbiome. *Nature Revs, Microbiol.* 9:244-253.
- Hagman R. 2012. Clinical and molecular characteristics of pyometra in female dogs. *Reprod. Domest. Anim.* 47(6):323-325.
- Jitpean S., Ström-Holst B., Emanuelson U., Höglund O.V., Pettersson A. Alneryd-Bull C. & Hagman R. 2014. Outcome of pyometra in female dogs and predictors of peritonitis and prolonged postoperative hospitalization in surgically treated cases. *BMC Vet. Res.* 10:6.
- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. Academic Press, San Diego, California. 915p.
- Kaymaz M., Bastan A., Erünel N., Aslan S. & Findik M. 1999. The use of laboratory findings in the diagnosis of CEH-pyometra complex in the bitch. *J. Vet. Anim. Sci.* 23:127-133.
- Khan F.A. & Khan M.F. 2010. Inflammation and acute phase response. *Int. J. Appl. Biol. Pharmaceut. Technol.* 1(2):312-321.
- Kjelgaard-Hansen M. 2004. Canine C-Reactive Protein: a study on the applicability of canine serum C-reactive protein. PhD Thesis in Veterinary Clinical Pathology, Royal Veterinary and Agricultural University, Frederiksberg, Denmark. 130p.
- Marsik C., Kazemi-Shirazi L., Schickbauer T., Winkler S., Joukhadar C., Wagner O.F. & Endler G. 2008. C-reactive protein and all-cause mortality in a large hospital-based cohort. *Clin. Chemistry* 54(2):343-349.
- Martínez-Subiela S., Tecles F., Parra M.D. & Ceron J.J. 2001. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas em medicina veterinária. *Anales Vet. Murcia* 17:97-114.
- McGrotty Y.L., Knottenbelt C.M., Ramsey I.K., Reid S.W.J. & Eckersall P.D. 2004. Evaluation of a rapid assay for canine C-reactive protein. *Vet. Rec.* 154(6):175-176.
- Mold C., Rodriguez W., Rodic-Polic B. & Du Clos T.W. 2002. C-reactive protein mediates protection from lipopolysaccharide through interactions with Fc-gammaR. *J. Immunol.* 169(12):7019-7025.
- Murata H., Shimada N. & Yoshioka M. 2003. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet. J.* 168(1):28-40.
- Nakamura M., Takahashi M., Ohno K., Koshino A., Nakashima K., Setoguchi A., Fugino Y. & Tsujimoto H. 2008. C-Reactive Protein concentration in dogs with various diseases. *J. Vet. Med. Sci.* 70(2):127-131.
- Nelson R.W. & Couto C.G. 2006. Distúrbios da vagina e útero, p.681-684. In: *Ibid.* (Eds), *Fundamentos da Medicina Interna de Pequenos Animais*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Petti C., Simmon K., Bender J., Blaschke A., Webster K.A., Conneely M.F., Schreckenberger P.C., Origitano T.C. & Challapalli M. 2008. Culture-negative intracerebral abscesses in children and adolescents from *Streptococcus anginosus* group infection: a case series. *Clin. Infect. Dis.* 46:1578-1580.
- Pretzer S.D. 2008. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: a review. *Theriogenology* 70(3):359-363.
- Quinn P., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J. & Leonard F.C. 2005. *Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas*. Artmed, São Paulo. 512p.
- Schlafer D.H. 2012. Diseases of the canine uterus. *Reprod. Domest. Anim.* 47(6):318-322.
- Smith F.O. 2006. Canine pyometra. *Theriogenology* 66(3):610-612.
- Sugiura K., Nishikawa M., Ishiguro K., Tajima T., Inaba M., Torii R., Hatoya S., Wijewaradana V., Kumagai D., Tamada H., Sawada T., Ikehara S. & Inaba T. 2004. Effect of ovarian hormones on periodical changes in immune resistance associated with estrous cycle in the beagle bitch. *Immunobiology* 209(8):619-627.
- Tobias K. & Spencer A. 2012. Ovaries and uterus, p.1871-1890. In: *Ibid.* (Eds), *Veterinary Surgery: small animal*. Vol.2. Elsevier Saunders, St Louis.
- Vuichard D., Zellwenger M., Altwegg M., Frei R. & Weisser M. 2011. Culture-negative, purulent pericarditis. *Der Internist* 52:889-893.
- Willard M. & Tvedten H. 2012. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 5th ed. Elsevier Saunders, St Louis. 418p.
- Yamamoto S., Tagata K., Nagahata H., Ishikawa Y., Morimatsu M. & Naiki M. 1992. Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 30(4):329-339.
- Zoldag L., Voros K., Benedek D. & Vrabely T. 1992. The diagnostic value of sonography in the clinical picture of pyometra in the dog. *Tierärztl. Praxis* 20:523-529.