



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

TALITA DE CAMPOS MELO TONET

**PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE CRISTALIZAÇÃO E
QUALIDADE DA LÁGRIMA EM CÃES DA RAÇA SHIH TZU**

TALITA DE CAMPOS MELO TONET

**PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE CRISTALIZAÇÃO E QUALIDADE
DA LÁGRIMA EM CÃES DA RAÇA SHIH TZU**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Orientadora: Prof. Dra. Mirian Siliane Batista de Souza

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

T664p Tonet, Talita de Campos Melo.
Padronização do teste de cristalização e qualidade da lágrima em cães da raça Shih Tzu / Talita de Campos Melo Tonet. - Londrina, 2024.
60 f. : il.

Orientador: Mirian Siliane Batista Souza.
Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Cães Shih Tzu - Tese. 2. Quantidade - Tese. 3. Qualidade da lágrima - Tese. 4. Diagnostico preventivo - Tese. I. Souza, Mirian Siliane Batista. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias. III. Título.

CDU 619

TALITA DE CAMPOS MELO TONET

**PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE CRISTALIZAÇÃO E QUALIDADE
DA LÁGRIMA EM CÃES DA RAÇA SHIH TZU**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Orientadora Dra. Mirian Siliane Batista
de Souza
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Ademir Zacarias Júnior
Universidade Estadual do Norte do Paraná -
UENP

Prof. Dr. Guilherme Schiess Cardoso
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 27 de maio de 2024.

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido Amauri por me apoiar a finalizar o meu sonho, e me colocar na realidade e a pensar em meus atos. Me lembrando que junto ao sonho do mestrado o meu sonho de ser mãe foi realizado.

Aos meus filhos, Arthur e Matheus, que com eles aprendi que nem tudo vem no momento em que a gente quer e como a gente sonhou e planejou; sempre vem no momento em que é para ser. Me desculpe pelos colos e choros que não pude conter, mas sempre fiz pensando no melhor para vocês. Mamãe, ama vocês!

Aos meus pais que sempre me apoiaram e me auxiliaram mesmo não estando bem de saúde. Com minha mãe Maria José, aprendi a batalhar e enfrentar as dificuldades, com meu pai a buscar mesmo quando o medo é maior que tudo.

Aos meus irmãos, Tatiana e Thiago, cunhado e cunhada por todo auxílio, carinho e cuidado. Em especial ao meu cunhado Guilherme T. Valente, que nas horas das dúvidas estava sempre pronto para ensinar.

Minha terapeuta Aline por me orientar e me ensinar que o TDA tem que ser tratado, me auxiliar na aceitação de que a medicação, às vezes, é necessária.

A Prof.a Miriam, que me orientou, me ensinou a pensar, a ponderar o melhor ao meu trabalho, meus estudos, minha família, me ensinou a buscar e a controlar minha ansiedade e dar um passo por vez. Com todas as dificuldades, fiz o meu melhor.

A médica veterinária e amiga Natália por todos esses anos ao meu lado, por assumir meus pacientes, sei que foi difícil a aceitação por parte dos tutores e sei que você sempre fez o melhor pelos animais. Por me orientar nas minhas dúvidas do projeto, me emprestar o seu laboratório para análise das lâminas e compartilhar, seu filho microscópio, para minhas análises.

A Gabrielle por ser a melhor secretária, amiga e ser como irmã mais nova. Pois, quando estava tudo certo de ir para a clínica coletar as amostras e surgia imprevisto com as crianças, ela conseguia reagendar todas as minhas coletas, auxiliar no manuseio dos cães, nas fotos e nas fichas de termos e consentimentos. Auxiliar nas buscas dos cães machos, quando eu achei que não iria conseguir, ela foi essencial ao revisar todo o arquivo da clínica e ligar para os tutores pedindo os animais enquanto eu coletava os demais, entre um atendimento e outro.

Aos estagiários que passaram e me auxiliaram no manejo com os cães, ao Carlinhos que não se importava quando eu atrasava o seu serviço, pois os animais estavam participando do projeto antes do banho. Aos veterinários que participaram da análise de cristalização, meu

muito obrigada pelo auxílio e por se interessar em aprender um pouquinho da oftalmologia.

Aos tutores que estiveram presentes na clínica com seus animais em busca de conhecimento e prevenção a saúde de seus cães.

Aos cães que fizeram parte do projeto, por serem amorosos, dóceis e me permitir avaliar, coletar e procurar o melhor para a saúde ocular.

Epígrafe

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê”. (Arthur Shopenhauer)

RESUMO

TONET, T. C. M. **Padronização do teste de cristalização e qualidade da lágrima em cães da raça Shih Tzu**. 2024. 67. Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Departamento de Clínicas Veterinária da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

Os cães braquicefálicos, como os Shih Tzu, têm predisposição à síndrome ocular do braquicefálico e a ceratoconjuntivite seca que é uma doença inflamatória ocasionada por alterações qualitativas e/ou quantitativa na produção da lágrima. A padronização da lágrima é avaliada em animais saudáveis como em animais com ceratoconjuntivite seca. O teste de cristalização (TC) é padrão ouro para diagnóstico dessa afecção, porque mensura, indiretamente, a osmolaridade do filme lacrimal pré-corneal (FLPC). O teste de Schirmer (TS) é utilizado para avaliar a porção aquosa da lágrima e o Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal (TRFL) indica a deficiência indireta de mucina. A avaliação da qualidade e quantidade da lágrima e a padronização da técnica de cristalização da lágrima em cães sadios da raça Shih Tzu na rotina clínica, foram estudadas como possibilidade do diagnóstico precoce, para evitar o comprometimento visual nestes animais. Para isso, foram estudados 46 cães da rotina clínica considerados assintomáticos. Os animais tinham entre um e 13 anos de idade e correspondiam 23 machos e 23 fêmeas. O objetivo foi observar se as características de idade, sexo e estado reprodutivo poderiam interferir na produção e qualidade da lágrima, quanto no teste de cristalização e verificar se as alterações encontradas nos exames clínicos eram unilateral olho direito e esquerdo ou bilateral. Como critério de exclusão os cães que apresentaram olhares amedrontados, tremores pele, inquietação, não aceitavam o manuseio, tentavam morder ou fugir; foram dispensados seguindo os critérios de bem estar animal os demais animais foram submetidos a uma consulta oftalmológica, portanto, foram mantidos em local com ambiente ventilado e temperatura e a umidade mensurado por aparelho Termo Higrômetro, no qual foram avaliados quanto a quantificação da lágrima pelo TS com uma fita de papel filtro no fórnice conjuntival, avaliação TRFL com a luz de cobalto e TC escala de Rolando (1984). A análise estatística tem confiança de 95%, os testes realizados foram de Shapiro-wilk, Levene, teste T e Teste de Fisher para avaliar a qualidade da lágrima e a padronização da Cristalização da lágrima, foi realizado teste de correlação de Pearson e V de Cramér. O valor médio encontrado para o TS foi $20,17 \pm 7,25$ mm/min e para o TRFL foi $15,90 \pm 7,7$ seg e para o TCL foi do tipo $2,37 \pm 1,39$. Observou-se anormalidade para TS olho direito para animais jovens (12 a 18 meses) e TRFL olho esquerdo em animais jovens e bilateral (olho direito e esquerdo). No teste de Levene não houve homogeneidade em TS X Idade, p-valor: 0,03936. Conclui-se que a idade interfere negativamente na qualidade da lágrima, o TRFL mesmo com luz de cobalto e lupa de pala em aumento de 3,5 x é menor nos Shih Tzu que em demais raças de cães. Os animais que têm TS e TRFL dentro da normalidade nem sempre terão a cristalização Tipo I ou Tipo II. No TCL, a umidade e a temperatura ambiente interferem no tempo e grau de cristalização moderadamente. É possível a implantação do Teste de Cristalização na rotina clínica, para prevenção e qualidade da saúde ocular dos cães.

Palavras-chave: ceratoconjuntivite seca, deficiência, diagnóstico, mucina, prevenção.

ABSTRACT

TONET, T. C. M. **STANDARDIZATION OF THE FERNING TEST AND TEAR QUALITY IN SHIH-TZU DOGS.** 2024. 67. DISSERTAÇÃO (MESTRADO PROFISSIONAL EM CLÍNICAS VETERINÁRIAS) – DEPARTAMENTO DE CLÍNICAS VETERINÁRIA, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA, LONDRINA, 2024.

Brachycephalic dogs, such as the Shih Tzu, are predisposed to brachycephalic eye syndrome and keratoconjunctivitis sicca, which is an inflammatory disease caused by qualitative and/or quantitative changes in tear production. Tear standardization is evaluated in healthy animals as well as in animals with keratoconjunctivitis sicca. The crystallization test (CT) is the gold standard for diagnosing this condition because it indirectly measures the osmolarity of the precorneal tear film (PCF). The Schirmer test (ST) is used to assess the aqueous portion of the tear and the tear film break-up time (LFTT) indicates indirect mucin deficiency. The evaluation of tear quality and quantity and the standardization of the tear crystallization technique in healthy Shih Tzu dogs in clinical routine were studied as a possibility of early diagnosis to avoid visual impairment in these animals. To this end, 46 asymptomatic routine clinical dogs were studied. The animals were between one and 13 years old and corresponded to 23 males and 23 females. The aim was to see whether age, sex and reproductive status could interfere with tear production and quality, as well as the crystallization test, and to check whether the alterations found in the clinical examinations were unilateral in the right and left eye or bilateral. Exclusion criteria were dogs that looked frightened, had skin tremors, were restless, did not accept handling, tried to bite or ran away; The other animals underwent an ophthalmological consultation, so they were kept in a ventilated environment with temperature and humidity measured by a Thermo-Hygrometer device, in which they were evaluated for tear quantification by TS with a filter paper strip on the conjunctival fornix, TRFL evaluation with cobalt light and TC scale by Rolando (1984). The statistical analysis has 95% confidence, the tests carried out were Shapiro-wilk, Levene's, T-test and Fisher's test to assess the quality of the tear and the standardization of tear crystallization, Pearson's correlation test and Cramér's V were carried out. The mean value found for TS was 20.17 ± 7.25 mm/min and for TRFL was 15.90 ± 7.7 sec and for TCL was 2.37 ± 1.39 . An abnormality was observed for right eye TS in young animals (12 to 18 months) and left eye TRFL in young animals and bilaterally (right and left eye). Levene's test showed no homogeneity between TS and age, p-value: 0.03936. It can be concluded that age has a negative effect on tear quality, and that TRFL, even under cobalt light and a 3.5x magnifying glass, is lower in Shih Tzu than in other dog breeds. Animals with normal TS and TRFL will not always have Type I or Type II crystallization. In TCL, humidity and ambient temperature have a moderate effect on the time and degree of crystallization. It is possible to implement the Crystallization Test in the clinical routine, for the prevention and quality of dogs' ocular health.

Key-words: keratoconjunctivitis sicca, deficiency, diagnosis, mucin, prevention.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura S1 –Estrutura do bulbo ocular canino.....	18
Figura S2 –Filme lacrimal pré-corneal.....	19
Figura S3 – Sinais Clínicos de Ceratoconjuntivite seca	21
Figura S4 – Imagem da cristalização da lágrima canina.....	23

Capítulo 2

Figura 1 – Teste de Schirmer -1	40
--	----

Capítulo 3

Figura 1 – Imagem da Cristalização da lágrima da esquerda para direita Tipo I, Tipo II, Tipo III, Tipo IV, segundo a escala de Rolando 1984, microscopia óptica e aumento de 40 x.....	52
Figura 2 – Classificação da Cristalização da lágrima dos 92 olhos de cães da raça Shih Tzu, de acordo com a distribuição dos grupos de faixa etária, realizados no período de setembro a dezembro de 2023.....	55
Figura 3 – Histogramas das interferências como idade, tempo de Cristalização, umidade relativa do ar e temperatura ambiente no Teste de Cristalização da lágrima, realizado pelo programa computacional softwareR.....	57

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2.

- Tabela 1** - Distribuição de cães da raça Shih Tzu participantes do experimento da avaliação qualitativa e quantitativa da lágrima de acordo com a classificação por faixa etária, sexo e estado reprodutivo.....41
- Tabela 2** - Média e desvio padrão do Teste de Schirmer, Teste e Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal avaliados em 92 olhos de cães da raça Shih Tzu de um a 13 anos de idade.....42
- Tabela 3**-Valores dos Testes Estatísticos realizados por meio do programa computacional R, em 46 cães da raça Shih Tzu sem alterações clínicas oculares e sistêmicas, para observar normalidade dos dados foram implantado p-valor: > 0,05.....43

Capítulo 3

- Tabela 1** - Distribuição de cães da raça Shih Tzu participantes no experimento de acordo com a classificação por faixa etária, sexo e estado reprodutivo.....53
- Tabela 2** - Classificação da Cristalização da Lágrima, de acordo com Rolando, (1984), em 46 cães da raça Shih Tzu, de um a 13 anos, sem evidências clínicas de CCS, avaliados na Clínica Veterinária São Francisco em Santo Antônio da Platina – PR, de setembro a dezembro de 2023.....54
- Tabela 3** – Valores da correlação das variáveis categóricas idade, sexo e estado reprodutivo com teste de cristalização da lágrima em olho direito e olho esquerdo em cães da raça Shih Tzu de um a 13 anos 59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

(A)	Adulto Jovem
(B)	Adulto
(C)	Idoso
A	Tipo I
B	Tipo II
C	Tipo III
D	Tipo IV
CCS	Ceratoconjuntivite seca
CEUA	Comitê de Ética de Uso Animal
F	Fêmea
FC	Frequência Cardíaca
FLPC	Filme lacrimal pré-corneal
FR	Frequência Respiratória
M	Macho
N	Não
OD	Olho Direito
OE	Olho Esquerdo
PAS	Pressão Arterial Sistêmica
S	Sim

TCL	Teste de Cristalização da Lágrima
TRFL	Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal
TS	Teste de Schirmer
TSOD	Teste de Schirmer olho direito
TR	Temperatura retal
UEL	Universidade Estadual de Londrina

SUMÁRIO

Capítulo 1: Revisão de Literatura de Ceratoconjuntivite Seca em cães. (Revista Ciência Animal Brasileira)

RESUMO	15
ABSTRACT	15
INTRODUÇÃO	16
DESENVOLVIMENTO	16
2.1 Anatomia da superfície ocular	16
2.2 Sistema lacrimal	18
2.2.1 Alteração do filme lacrimal pré-corneal	20
2.3 Ceratoconjuntivite seca	20
2.4 Sinais clínicos.....	21
2.5 Exame clínico.....	21
2.6 Diagnóstico.....	24
2.7 Tratamento.....	24
CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS	26

Capítulo 2. Padronização da qualidade da lágrima em cães da raça Shih Tzu (Sêmina Ciências Agrárias)

RESUMO	37
ABSTRACT	38
INTRODUÇÃO	39
MATERIAIS E METODOS	39
RESULTADO E DISCUSSÃO	41
CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	44

Capítulo 3: Critérios da avaliação e leitura do teste de cristalização da lágrima em cães da raça Shih Tzu (Revista Brasileira de Ciência Veterinária)

RESUMO	47
ABSTRACT	48
INTRODUÇÃO	49
MATERIAIS E METODOS	50
RESULTADO E DISCUSSÃO	53
CONCLUSÃO	61
AGRADECIMENTO	61
REFERÊNCIAS	61
CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
APÊNDICES	65
APÊNDICE A – Ficha de Atendimento Oftálmica	65

Capítulo 1: Revisão de Literatura de Ceratoconjuntivite Seca em cães.

Literature review of keratoconjunctivitis sicca in dogs

RESUMO

O objetivo desse trabalho é de atualizar e orientar médicos veterinários clínicos sobre os testes diagnósticos para detecção precoce da CCS, a fim de evitar o comprometimento visual, que interfere na qualidade de vida dos cães. Os cães da raça Shih Tzu têm origem asiática no Tibete, e está entre as raças mais populares do mundo e entre as mais estudadas, devido sua conformação anatômica e fisiológica, à predisposição a ceratoconjuntivite seca (CCS) e enfermidade de superfície ocular denominada de síndrome ocular do braquicefálico. A CCS é uma doença multifatorial que altera qualitativa e/ou quantitativamente o filme lacrimal pré-corneal (FLPC), o que ocasiona diversos sintomas e/ou imparcialidade visual. O FLPC tem a função de nutrir, proteger, oxigenar, lubrificar e manter uniforme a superfície ocular, para verificar esse fluido, exames clínicos como teste de Schirmer, o tempo de ruptura do filme lacrimal e o teste de cristalização da lágrima são necessários. Os cães braquicefálicos possuem órbita rasa, incompleta com alterações nas pálpebras, cílios e bulbo ocular, portanto, falhas na lubrificação, escoamento da lágrima e evaporação excessiva podem acontecer. Em animais que apresentam sinais clínicos e alterações no exame clínico são necessários tratamento clínico e/ou cirúrgico. Os cães com início do tratamento precoce apresentam uma resposta adequada ao tratamento. Entretanto a maioria das vezes o diagnóstico é tardio, a demora torna, a cegueira irreversível. Conclui-se que a CCS ainda é uma doença multifatorial que não possui cura, mas sim controle. Dessa forma, implementar a técnica como TCL rotineiramente, resulta no diagnóstico preventivo.

Palavras-chave: filme lacrimal; prevenção; Shih Tzu.

ABSTRACT

The aim of this study is to update and guide clinical veterinarians on diagnostic tests for the early detection of SCC, in order to prevent visual impairment, which interferes with dogs' quality of life. Shih Tzu dogs have Asian origins in Tibet, and are among the most popular breeds in the world and among the most studied, due to their anatomical and physiological conformation, predisposition to keratoconjunctivitis sicca (CCS) and ocular surface disease called brachycephalic ocular syndrome. CCS is a multifactorial disease that qualitatively and/or quantitatively alters the pre-corneal tear film (PCF), which causes various symptoms and/or visual impairment. The PCF has the function of nourishing, protecting, oxygenating, lubricating and keeping the ocular surface uniform. To check this fluid, clinical tests such as the Schirmer test, tear film break-up time and the tear crystallization test are necessary. Brachycephalic dogs have a shallow, incomplete orbit with alterations to the eyelids, eyelashes and ocular bulb, so failures in lubrication, tear drainage and excessive evaporation can occur. In animals that show clinical signs and alterations on clinical examination, clinical and/or surgical treatment is necessary. Dogs that start treatment early have an adequate response to treatment. However, most of the time the diagnosis is late, and the delay makes blindness irreversible. It can be concluded that SCC is still a multifactorial disease that cannot be cured, only controlled.

Therefore, implementing the technique as a routine TCL results in preventive diagnosis.

Key-words: tear film, prevention, Shih Tzu.

INTRODUÇÃO

A raça canina Shih-Tzu tem origem asiática, no Tibete, e está entre as 20 raças mais populares do mundo, de acordo com O American Kennel Club⁽¹⁾. No Brasil segundo o PetCenso de 2021, está em segundo lugar de preferência (12%), por serem cães pequenos e de companhia, dóceis e com baixo grau de energia⁽²⁾, contudo é uma das raças mais comuns da clínica veterinária com sinais clínicos oculares, devido suas particularidades anatômicas e fisiológicas que propiciam as afecções do órgão⁽¹⁾.

A ceratoconjuntivite seca (CCS) ou síndrome do olho seco é uma doença multifatorial que promove dano na superfície ocular, ocasionada por instabilidade do filme lacrimal pré-corneal (FLPC), o que ocasiona diversos sintomas e/ou imparcialidade visual^(3, 4). A CCS pode ser classificada como quantitativa, quando ocorre por deficiência na produção e liberação da porção aquosa da lágrima, ou qualitativa, também denominada de síndrome do olho seco evaporativo, que acontece devido a alteração na camada lipídica da lágrima ou por deficiência na produção de mucina^(5, 4, 6).

Os exames clínicos empregados para detectar as alterações no FLPC apresentam baixo custo, fácil implementação e execução na rotina clínica de pequenos animais. O Tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL) é um teste utilizado para mensurar a instabilidade do filme lacrimal e indica a deficiência indireta na produção de mucina⁽⁷⁾. O teste de Schirmer é realizado para quantificar a produção lacrimal, e o teste de cristalização da lágrima (TCL) permite a mensuração indireta da osmolaridade do FLPC⁽⁷⁾.

A CCS esta associada à síndrome ocular do braquicefálico, portanto, é uma das afecções mais presentes na rotina clínica de pequenos animais, tendo essa revisão de literatura o objetivo de atualizar e orientar médicos veterinários clínicos na instituição dos testes diagnósticos para detecção precoce da ceratoconjuntivite seca, a fim de evitar o comprometimento visual, que interfere na qualidade de vida dos cães.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 ANATOMIA DA SUPERFÍCIE OCULAR

Os cães possuem uma órbita rasa e incompleta, e têm a função de manter a estabilidade do bulbo ocular. A órbita ocular é constituída pelos ossos frontal, palatino, lacrimal, maxilar, zigomático e pré-esfenoide. Além de diversos forames por onde passam os vasos sanguíneos e

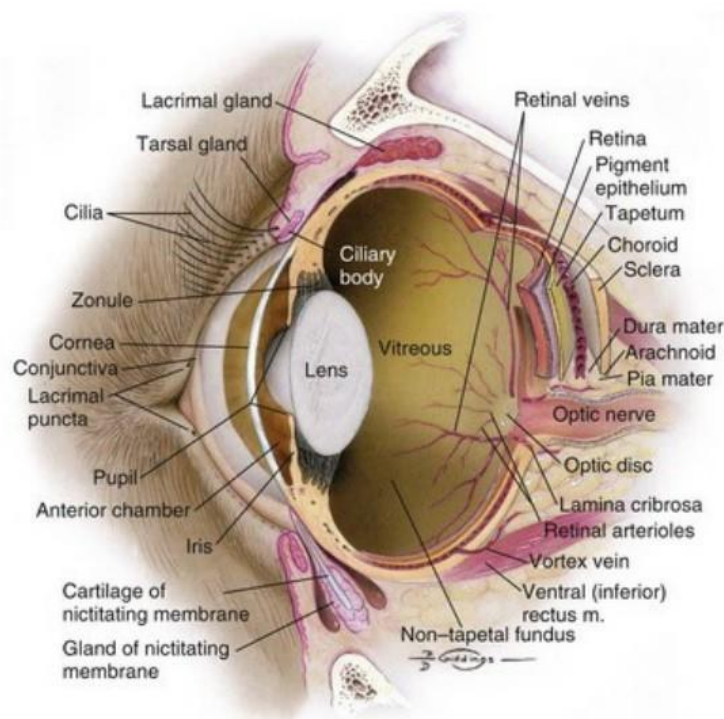
nervos, sendo revestida de musculatura, tecidos linfoides e conjuntiva, no qual está inserido o ducto nasolacrimal ⁽⁸⁾.

Cães possuem três pálpebras: superior, inferior e terceira pálpebra, também conhecida como membrana nictitante. Ela está localizada na porção medial do saco conjuntival, entre as pálpebras superior e inferior e a córnea. Ela é formada por uma estrutura cartilaginosa hialina e fina, com formato de T, e recoberta de tecido conjuntivo^(9, 8). As pálpebras possuem de duas a quatro fileiras de cílios que iniciam perto do quarto ou terço medial estendendo até o canto lateral da pálpebra superior, no qual se encontram de 20 a 40 glândulas de Meibomio, em que seus ductos secretam produto para formar a camada lipídica da lágrima ⁽⁸⁾.

A raça Shih Tzu e outras braquicefálicas possuem uma pálpebra arredondada, a junção da pálpebra superior e inferior formam os cantos medial e lateral, e sua abertura é chamada de fissura palpebral. Sua função é proteger os olhos da luz, produzir parte do filme lacrimal e espalhá-lo, remover os corpos estranhos da córnea e da superfície conjuntival, e direcionar o filme lacrimal para escoar no ducto nasolacrimal ^(9,8).

A conjuntiva é uma membrana mucosa que reveste a parte interna das pálpebras superior, inferior e a superfície anterior e posterior da membrana nictitante. Ela recobre o bulbo ocular, denominada de conjuntiva bulbar, a junção entre a conjuntiva palpebral e a conjuntiva bulbar é chamada de fórnix conjuntival. Na conjuntiva, contém células caliciformes que são produtoras de mucina de distribuição heterogênea. A conjuntiva é constituída de duas camadas: a adenoide superficial, que contém vários folículos e glândulas linfáticas, e a camada fibrosa profunda, que contém os nervos e vasos conjuntivais ⁽⁸⁾.

O bulbo ocular é dividido em três camadas, as quais são denominadas de túnica fibrosa, vascular e nervosa. A túnica fibrosa é a camada externa responsável pelo formato do olho, na qual é dividida em córnea e esclera. A córnea é transparente, portanto, permitindo a passagem da luz, avascularizada e innervada pelos nervos ciliares, que são ramos do nervo trigêmeo, é dividida em quatro camadas que de fora para dentro são epitélio, estroma, membrana de Descement e endotélio. A túnica vascular ou úvea é a camada intermediária é dividida em corpo ciliar, íris e coróide, que são estruturas pigmentadas e vascularizadas. A camada interna é a túnica nervosa, constituída de retina e nervo óptico. As três túnicas fundem-se e seu interior é constituído por humor aquoso, vítreo e cristalino que transmitem a refração da luz na retina e o humor aquoso e o humor vítreo mantém a pressão do bulbo ocular e o formato arredondado⁽⁸⁾ conforme Figura 1 (Estrutura do bulbo ocular canino).

Figura S1 - Estrutura do bulbo ocular canino

Fonte: Miller, P. E, 2013.

2.2 Sistema Lacrimal

O sistema lacrimal é constituído de glândulas sebáceas, denominadas de glândulas Meibômio, glândula lacrimal principal, glândulas lacrimais acessórias, glândula da membrana nictante, células caliciformes, ducto nasolacrimal, puncta nasal ostio nasal e saco nasolacrimal⁽⁸⁾. A glândula da membrana nictitante está situada sobre o ligamento orbitário e é envolvida pela periórbita na parte dorsolateral da órbita⁽⁸⁾.

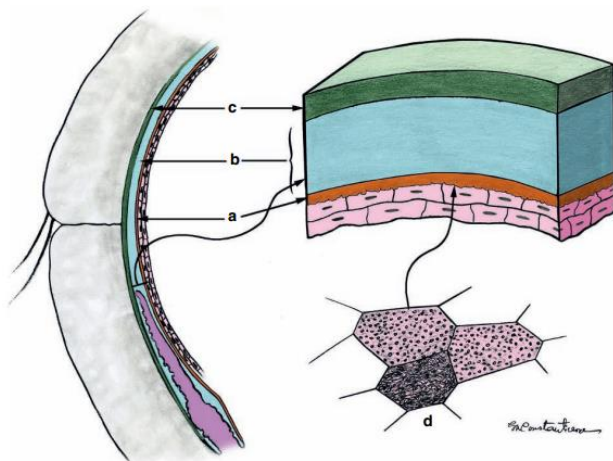
O FLPC mantém a superfície ocular uniforme, faz a proteção contra corpos estranhos, lubrifica a córnea e a conjuntiva, oxigena, nutre o olho e controla os microorganismos^(10, 11, 8). É uma estrutura complexa constituída de três camadas intrinsecamente misturadas: lipídica, aquosa e mucina⁽⁹⁾.

A camada externa, denominada de camada lipídica, tem aspecto fino e oleoso, é produzida pelas glândulas meibomianas e glândulas sebáceas de Zeis, sendo responsável pela redução da evaporação da camada aquosa⁽⁹⁾.

A camada intermediária chamada de aquosa é secretada pela glândula lacrimal orbitária, responsável por 61,7% da produção, as glândulas acessórias 3,1% e a glândula da membrana nictitante 35,2% é compostas de 98% de água e 2% de materiais sólidos como minerais, proteínas, glicose e células sanguíneas, imunoglobulinas A e G, albuminas, lactoferrinas, sais inorgânicos, responsável por fornecer oxigênio e outros nutrientes para a córnea, como também, fluidificar a superfície ocular para remover corpos estranhos ^(5, 11, 9).

A camada mais interna é a camada de mucina produzida, predominantemente, pelas células caliciformes conjuntivas apócrinas ^(10, 5, 8). Entretanto, a mucina se liga tanto ao epitélio conjuntival e o corneano, como flutua livre no filme lacrimal, o que promove uma viscosidade mais graduada, tornando-a uma camada mais espessa ⁽⁵⁾ Figura 2 (Filme lacrimal pré-corneal).

Figura S2 - Filme lacrimal pré-corneal



Legenda: a: camada interna do filme lacrimal, camada de mucina, produzida pelas células caliciformes, presente na conjuntiva bulbar e palpebral; b: camada média ou camada aquosa do FLPC, produzida pelas glândulas lacrimas principal, acessória e membrana nictitante; c: camada externa ou camada lipídica do FLPC, produzida pelas glândulas de meibomio e glândulas de Zeis.

Fonte: Giuliano, 2021.

A produção de lágrima está relacionada a ramificação sensorial do sistema nervoso, as fibras parassimpáticas eferentes do nervo facial estimulam a produção basal da porção aquosa da lágrima, produzida pela glândula lacrimal por meio do arco-reflexo e a produção reflexa as fibras simpáticas ⁽⁸⁾.

2.2.1 Alterações no Filme Lacrimal Pré-corneal

As anormalidades do FLPC tem início a partir da diminuição dos seus componentes (Madruga et al., 2018). Vários fatores podem alterar sua composição e a dinâmica, como as anomalias de pálpebras, inflamação da conjuntiva, idade, ciclo estral, sexo, hipoadrenocorticismo e doenças imunomediadas^(10, 5, 12).

Os Filhotes tem o fluxo lacrimal estabilizado entre nove a 10 semanas de idade. Durante o dia pode ocorrer interferência de < 2mm/min na produção lacrimal, já na produção de lágrima noturna a diminuição pode ocorrer com o passar da idade dos animais, uma vez que essa redução pode ser de 0,44 mm/ano⁽¹³⁾.

A deficiência lacrimal está relacionada com a hipertonicidade e desidratação do epitélio da córnea. No início do olho seco, ocorre hipóxia no epitélio e no estroma corneano subepitelial. Porém, a deficiência qualitativa, ocorre por anormalidade nos componentes lipídicos ou mucoso, uma vez que há evaporação da lágrima em excesso ou falta da produção de lipídios, ocasionada por obstrução das glândulas de Meibômio⁽¹⁴⁾.

A falta dos hormônios andrógenos no organismo podem causar alterações degenerativas irreversíveis no tecido lacrimal, pois são responsáveis pela secreção das glândulas de meibômio, ocorrendo assim, a diminuição do volume total de lágrimas e do teor proteico das lágrimas^(14, 9).

2.3 Ceratoconjuntivite Seca

A Ceratoconjuntivite seca (CCS) é uma enfermidade de inflamação progressiva da córnea, da conjuntiva e das glândulas lacrimais causada pela deficiência neurogênica da produção de lágrimas, como também por alteração qualitativa e quantitativa do FLPC^(15, 16, 17). Sendo assim, um problema substancial em pacientes humanos e caninos que podem coexistir ao mesmo tempo^(16, 11, 18).

Diversas causas podem desencadear a síndrome da CCS em cães, como o vírus da cinomose, causas imunomediadas, perda da inervação sensorial do nervo trigêmeo, perda da inervação parassimpática do nervo facial, radioterapia local, neoplasias em cabeça, trauma orbital ou supra-orbital, doenças metabólicas sistêmicas (diabetes mellitus, hiperadrenocorticismo, hipoadrenocorticismo e hipotireoidismo) e alacrimia congênita ou hipoplasia congênita de ácinos lacrimais, e iatrogênica como a ressecção da glândula da terceira pálpebra, pelo uso incorreto e contínuo de atropina ocular, além do uso excessivo de sulfas^(15, 4, 14).

As raças mais acometidas são: Shih-Tzu, Lhasa apso, Pequês, Buldogue Inglês, Yorkshire Terrier, Pug, Cocker Spaniel Americano, West Highland White Terrier, Schnauzer, Cavalier King Charles, Bloodhound, Samoieda e Boston Terrier. Apresentando predileção por animais do sexo feminino ^(5, 16, 14, 19).

2.4 Sinais Clínicos

Os sinais clínicos dependem se apresentam alterações palpebrais e do tempo do início dos primeiros sintomas esses podem ocorrer de forma uni ou bilateral. No início é observado desconforto ocular, hiperemia de conjuntiva, fotofobia, blefaroespasmos, neovascularização da córnea e quemose. A córnea pode se apresentar irregular, opaca, edemaciada, com presença de úlceras e secreção mucoide ou mucopurulenta ressecada e em casos mais graves, pode resultar em ceratite pigmentar, perfurações e lesões oculares extensas, glaucoma e cegueira ^(12, 5, 16, 4), Figura 3 (Sinais Clínicos de Ceratoconjuntivite seca canina).

Figura S3 - Sinais Clínicos de Ceratoconjuntivite seca canina



Legenda: sinais clínicos: triquiase, secreção purulenta, opacidade da córnea, uveíte, entropio de canto medial, úlcera de córnea, ceratite pigmentar, hipópio

Fonte: Arquivo Pessoal, 2024.

2.5 Exame Clínico

O exame clínico oftálmico não deve ser realizado isoladamente, e sim em complementação ao exame físico, pois algumas doenças sistêmicas apresentam sintomatologia ocular e de seus anexos bilateralmente, ao contrário da sintomatologia oftálmica, que pode apresentar sinal clínico unilateral ⁽²⁰⁾.

A anamnese e o exame físico detalhado devem ser associadas a investigação minuciosa

dos sinais oculares, podendo ser necessário a realização de exames laboratoriais para o auxílio diagnóstico⁽²⁰⁾.

O exame ocular observar assimetria facial, o andar em sala clara e escura para identificação de cegueira, observar região de periórbita, estrabismo, movimentação de cabeça. Alguns materiais como tiras de Schirmer, lupa de pala ou lâmpada de fenda, lanternas, oftalmoscópio direto ou indireto - transiluminador e lentes de 20, 28 dioptrias e 2.2 panretinal, tonômetro de aplanção, colírios a base de corante (Rosa Bengala, Fluoresceína, Verde Lissamina), anestésicos, cicloplégicos, (swabs) estéreis, escova ou espátula para citologia, se faz necessário para realização⁽²⁰⁾.

O olho é examinado por meio das estruturas externas para as internas, ou seja, após avaliar o animal a uma certa distância, faz o teste de Schirmer (TS) para não haver interferência da luz sobre a produção reflexa da lágrima⁽²⁰⁾.

A avaliação palpebral inicia-se pela parte externa das pálpebras, seguindo para observação da túnica fibrosa com auxílio da lupa de pala e uma fonte de luz ou lâmpada de fenda para verificar a conjuntiva palpebral, a córnea e a esclera⁽²⁰⁾.

A avaliação neuro-oftálmica acontece com a resposta de ameaça visual, o reflexo pupilar direto e consensual, o reflexo corneal e o reflexo vestibulocular. Após fazer os exames das estruturas extra e intraoculares a avaliação da lágrima por meio do teste de cristalização da lágrima (TCL), tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL) é realizada para complementar as informações. Ao anestesiá-lo o olho a tonometria e a gonioscopia são realizadas e em seguida a avaliação da terceira pálpebra. Uma vez que a pupila está dilatada, com oftalmoscópio direto ou indireto observa-se a lente, o humor vítreo, a retina e o nervo óptico⁽²⁰⁾.

A avaliação da superfície ocular tem várias funções na semiotécnica oftálmica, pois são realizadas com técnicas de fácil implantação, que obtém muitas informações sobre a composição do FLPC, portanto é utilizada para o diagnóstico de doença de superfície ocular como a CCS⁽⁷⁾.

O TS é o método quantitativo mais eficaz para avaliar a porção aquosa do filme lacrimal que auxilia no manejo clínico de diversos distúrbios oculares. O TS1 é o mais utilizado na medicina veterinária, pois se coloca a tira papel filtro, com medida de 5mm de largura por 35 mm de comprimento, no fórnice do saco conjuntival ventral por 60 segundos a mensuração refere-se à produção de lágrima basal e reflexa, esse valor pode variar até 0,7 mm/min na produção diária da lágrima, como também pode resultar diferença dessa produção no decorrer de uma semana, quando os valores interpretados na tira umedecida forem abaixo de 5 mm/min

são considerados diagnósticos de CCS ^(10, 13, 19).

O tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL) é usado para avaliar a qualidade da lágrima, nele observa-se alterações na camada lipídica e na camada de mucina, no qual consiste na aplicação de um corante capaz de impregnar em células do epitélio corneal desprovidas de mucina e/ou lipídios, permitindo a observação, com auxílio da lâmpada de fenda e/ou a luz de cobalto a quebra do filme lacrimal pré-corneal. Entre os corantes aplicados, o de fluoresceína é o mais comum, porém o corante rosa bengala ou verde lissamina também podem ser utilizados. No cão, a média do teste varia de $19,7 \pm 5$ a $21,53 \pm 7,42$ segundos ^(5, 13).

O Teste de Cristalização da Lágrima (TCL), por sua vez permite a mensuração indireta da osmolaridade do FLPC, uma vez que, mensura a concentração dos eletrólitos presentes na lágrima, auxiliando no diagnóstico precoce da síndrome da CCS ⁽⁷⁾ é utilizado na rotina oftálmica de humanos e inserido na semiotécnica da oftalmologia veterinária, porém, ainda não apresenta padronização para raças específicas ^(21, 7).

A cristalização da lágrima quando seca, tem aspecto de folha de samambaia por cristalizar alguns componentes do FLPC. Rolando (1984) classificou os achados de cristalização da lágrima em quatro grupos distintos, conforme a presença e exuberância destas folhas, sendo que os padrões encontrados se diferem entre as lágrimas de indivíduos normais e com deficiências lacrimais. No padrão de Cristalização do tipo I, as estruturas se apresentam uniformes sem espaços entre as ramificações; no tipo II; pequenos espaços começam a aparecer, mas, continuam presentes as ramificações; no tipo III; há grandes espaços presentes com ramificações pobres, e no tipo IV; o fenômeno de cristalização está ausente conforme Figura 4 (Imagem da cristalização da lágrima canina) ^(7, 13).

Figura S4 - Imagem da cristalização da lágrima canina



Legenda: A: Padrão da Cristalização tipo I, B: padrão da cristalização tipo II, C: padrão de cristalização tipo III, D: padrão de cristalização tipo IV.

Fonte: Williams, D. e Hewitt, E. (2017).

O TCL é realizado por meio da coleta de uma gota da lágrima em um tubo de microcapilar e posteriormente é depositada em uma lâmina de vidro para secar durante 5 a 7 minutos à temperatura ambiente entre 24 °C e umidade de 50 - 75%. Em seguida, é visualizado o aspecto de folha de samambaia por microscopia com o aumento de 40x. Fatores que contribuem para resultados desfavoráveis são sujidades, teor do muco, taxa de evaporação da lágrima, além da temperatura e a umidade relativa do ar. As classificações consideradas como normais são tipo I e II. Já as alteradas são aquelas que apresentam espaços maiores, poucas ramificações (tipo III ou não apresentam cristalizações do tipo IV) ^(21, 7).

2.6 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da CCS é realizado feito por meio da avaliação dos sinais clínicos e pelo TS1 e TRFL, porém o TCL pode ser utilizado como diagnóstico precoce da doença ⁽²²⁾. A CCS quantitativa do TS, é inferior a 10mm/min ⁽¹⁹⁾.

A CCS qualitativa o TRFL estará abaixo de 19 segundos para os cães, porém os Shih Tzu apresentam média de 13 segundos, devido sua anatomia e fisiologia, porém há relatos de até 3,6 segundos para cães Shih Tzu ⁽²³⁾. Há três principais fatores que auxiliam nesses valores, raça, baixa densidade de células caliciformes na conjuntiva e disfunção da glândula de meibomio ⁽²⁴⁾.

O teste de cristalização é o melhor teste para o diagnóstico preventivo, pois é ele que irá demonstrar os eletrólitos presentes na lágrima e como a camada de mucina irá estar sobre a superfície corneana uma vez que, mensura indiretamente a osmolaridade do FLPC ^(7, 13, 19).

A ceratoconjuntivite seca pode afetar um ou os dois olhos, portanto, o grau da cristalização da lágrima nem sempre será o mesmo para o cada olho ⁽²⁴⁾. A Cristalização é um exame independente, porque os animais que possuem TS e TRFL com valores normais, podem apresentar alterações na cristalização e os que possuem TS e TRFL anormais, pode observar TCL com padrões normais ⁽¹⁾.

A cristalização da lágrima na lâmina de vidro acontece pela evaporação da água e a dessecação dos solutos ou cristaloides (proteína, sais e mucina) presentes na lágrima. Falhas nesse processo, ordenam para a Classificação de Rolando e a escala de Masmali e demonstra a deficiência qualitativa do FLPC ⁽²⁸⁾.

2.7 TRATAMENTO

O tratamento da CCS pode ser clínico e/ou cirúrgico, conforme o comprometimento visual, opacidade da córnea, hiperemia conjuntival extrema, pálpebras ressecadas, sendo o clínico considerado o de primeira escolha. O uso de medicamentos tem por função estimular a

produção lacrimal na reposição da lágrima, controlar a contaminação bacteriana, eliminar o excesso de muco, diminuir a inflamação e inibir a ação das collagenases em casos concomitantes com úlceras de córnea ⁽¹⁴⁾.

A terapia tópica para CCS consiste em fármacos como inibidores de calcineurina e / ou imunossuppressores, como a ciclosporina A, tacrolimus e pimecrolimos associadas a colírios lubrificantes, anti-inflamatório, antibióticos e mucolíticos quando necessários. A ciclosporina A é um medicamento imunomodulador que inibe a ativação dos linfócitos T por supressão da calcineurina, reduz a produção de interleucina-2 e interleucina-4 (IL-2, IL-4), bem como a formação específica de receptores para linfócitos T, diminuindo assim a inflamação e aumentando a produção lacrimal e é utilizada para CCS imunomediada. O tacrolimus é antibiótico macrolídeo com ação imunomoduladora, que auxilia a produção de células caliciformes com ação anti-inflamatória, que quando associado ao ômega-3 produz mediadores anti-inflamatórios ^(15, 16, 26, 19).

Os cães que apresentam CCS qualitativa, quantitativa e imunomediada faz-se o uso de colírios estimulantes e/ou substitutos de lágrimas que têm como função lubrificar, promover conforto ocular e proteger a superfície ocular, resultando na estabilização da camada mucoaquosa ^(12, 14). Há diversas composições comercializadas nos quais podem conter ou não conservantes, os agentes mais comuns são os que incluem álcool polivinílico, polímeros de celulose (metilcelulose, carboximetilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose), polietilenoglicol, dextrano, polivinilpirrolidona e hialuronato. As pomadas também podem ser utilizadas devido seu tempo de ação sobre a superfície ocular ⁽²⁷⁾.

Os colírios substitutos de lágrimas com os a base de hialuronato de sódio, possuem uma molécula de cadeia curta com baixo peso molecular, baixa concentração e alta viscosidade, portanto, aumentam a lubrificação da córnea, melhoram a estabilidade do FLPC, resultando na diminuição da evaporação da camada aquosa da lágrima, bem como o auxílio na cicatrização do epitélio da córnea. Esses colírios resultam em uma melhora clínica quando comparados aos géis a base de carbômeros, quanto a administração ocular, por mais que mantenham a superfície ocular lubrificada por um tempo maior comparado aos demais colírios a base de álcool. Os colírios a base de carboximetilcelulose e polivinilpirrolidona, os substitutos de lágrima a base de álcool precisam ser administrados várias vezes, para obter a melhora clínica ^(28, 26, 27).

Cães que apresentam CCS neurogênica em que ocorre a perda da inervação parassimpática, resultando no comprometimento a produção lacrimal, o uso da Pilocarpina é indicado, por ser um medicamento colinérgico muscarínico agonista. A aplicação tópica não

obteve resultado, portanto é utilizado via oral, mas pode ocorrer o efeito colateral de intoxicação (14, 27).

Caso o tratamento clínico não tenha o efeito esperado, o paciente é encaminhado para o tratamento cirúrgico de transposição do ducto parotídeo. Neste caso, a saliva é substituída da lágrima e a tarsorrafia parcial permanente é o procedimento realizado, que melhora o fechamento das pálpebras e reduz a exposição do bulbo ocular protegendo a córnea e conservando as lágrimas existentes, mas as complicações pós-operatórias como torção, traumatismo e laceração de ducto parotídeo, edema de face, dor pós operatório, mau funcionamento temporário ou permanente, oclusão do ducto pós cirúrgico, retração da papila com fechamento fibroso da abertura conjuntival, deposição de minerais sobre a superfície palpebral podem ocorrer (14).

CONCLUSÃO

A CCS é uma doença multifatorial que não possui cura, mas sim controle. O diagnóstico realizado preventivamente, faz com que o animal mantenha melhor qualidade visual por mais tempo, para isso o teste de cristalização da lágrima é o melhor meio de auxílio diagnóstico uma vez que apresenta a deficiência qualitativa antes dos sinais clínicos e dos demais testes apresentarem alteração. O tratamento clínico ainda é a melhor forma de tratamento para essa doença.

REFERÊNCIAS

1. Sebbag L, Silva APSM, Santos ÁPB, Raposo ACS, Oriá AP. An eye on the Shih Tzu dog: Ophthalmic examination findings and ocular surface diagnostics. *Veterinary Ophthalmology* [Internet]. 2023 [citado 2024 jan 29]; (26):31–46. Disponível em: wileyonlinelibrary.com/journal/vop. DOI: 10.1111/vop.13054.
2. Couto G. Pesquisa revela que Shih-tzu é a segunda raça de cães mais querida do Brasil.[Internet] *Cães & Gatos*; 2022 ago 2 [citado 2023 dez 20]. Disponível em: [https://caesegatos.com.br/pesquisa-revela-que-shih-tzu-e-a-segunda-raca-de-caes-mais-querida-do-brasil/#:~:text=A%20pesquisa%20mostrou%20que%20a,%25\)%2C%20que%20lideram%20o%20ranking](https://caesegatos.com.br/pesquisa-revela-que-shih-tzu-e-a-segunda-raca-de-caes-mais-querida-do-brasil/#:~:text=A%20pesquisa%20mostrou%20que%20a,%25)%2C%20que%20lideram%20o%20ranking). Brasil.
3. Tsubota K, Yokoi N, Shimazaki J, Watanabe H, Dogru M, Yamada M, Kinoshita S, Kim H, Tchah H, Hyon JY, Yoon K, Seo KY, Sun X, Chen W, Liang L, LI M, LIU Z. New Perspectives on Dry Eye Definition and Diagnosis: A Consensus Report by the Asia Dry Eye Society. *The Ocular Surface* [Internet]. 2017 [citado 2024 jan 27];

15(1):65-76. Disponível em: www.theocularsurface.com. Ásia.

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

4. Smith SM, Holt E, Aguerre GD. Conjunctival staining with lissamine green as a predictor of tear film deficiency in dogs. *Veterinary Ophthalmology*, [Internet] 2020 [citado 2022 ago 15]; 00: 1-8. Disponível em: wileyonlinelibrary.com/journal/vop Philadélfia. DOI: 10.1111/vop.12762
5. Paula LV, Carvalho LRO, Freitas TGF, Vitor TL, Amaral AVC. Prevalência de ceratoconjuntivite seca em cães no hospital veterinário da Universidade Federal de Jataí. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*, 2018; 15(28):1-12. (DOI: 10.18677/EnciBio_2018B126)
6. Kim Y, Kang S, Kim S, Shim J, Go S, Seo K. Reference values for selected dry eye tests in normal Beagle dogs: a pilot study. *Journal Veterinary Science* [Internet]. 2022 [citado 2022 ago 15]; 23(1), e10:1-12. Disponível em: <https://vetsci.org>. Seaul. <https://doi.org/10.4142/jvs.21169>
7. Oriá Arianne P, Raposo Ana Claudia S, Araujo Nayone LLC, Lima Felipe Baldo, Masmali Ali M. Tear ferning test in healthy dogs. *Veterinary Ophthalmology*, [periódico na internet]. 2017. [citado 2022 ago 15]; 1-8 Disponível em: DOI:10.1111/vop.12524
8. Meekins JM, Rankin AJ, Samuelson DA. *Ophthalmic Anatomy*. In: Gelatt, K.N. *Veterinary Ophthalmology*. 6ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2021. p. 41-123. USA (www.ajlobby.com)
9. Hendrix DVH, Thomasy, SM, Gum GG. *Physiology of the Eye*. In: Gelatt, K.N. *Veterinary Ophthalmology*. 6ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2021. p. 127-167. USA (www.ajlobby.com)
10. Visser Hannah E, Tofflemire Kyle L, Love-myers Kim R, Allbaugh Rachel A, Ellinwood N Matthew, Dees D Dustin, Ben-Shlomo Gil, Whitley, R David. Schirmer tear test I in dogs: results comparing placement in the ventral vs. dorsal conjunctival fornix. *Veterinary Ophthalmology*, [periódico na internet] 2017. [citado 2022 ago 15] 1(4), 1-4 Disponível em: DOI:10.1111/vop.12462
11. Dietrich, Jana, Schrader; S. Towards Lacrimal Gland Regeneration: Current Concepts and Experimental Approaches. *Current Eye Research*. [periódico na internet]. 2019 jul 09 [citado 2022 set 25]; 1(12):1-11. Alemanha (<https://doi.org/10.1080/02713683.2019.1637438>)

12. Madruga G.M, Ribeiro A.P, Magalhães TBS, Rondelli LAS, Furlan, FH. Effect of 0.15% sodium hyaluronate and 0.5% carboxymethylcellulose on tear film breakup time in healthy dogs and in dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* [periódico na internet] 2018 jul. [citado 2022 set 20]; 70(5):1388-1396. Brasil. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9733>
13. Featherstone H. J, Heinrich CLH. Ophthalmic Examination and Diagnostics. In: Gelatt, K.N. *Veterinary Ophthalmology*. 6 ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2021, p. 564-661. USA (www.ajllobby.com)
14. Giuliano E. A. Diseases and Surgery of the Canine Lacrimal Secretory System. In: Gelatt, K.N. *Veterinary Ophthalmology*. 6ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2021. p. 1008 - 1046. USA (www.ajllobby.com)
15. Silva Danielle. Alves, Nai Gisele Alborgetti, Giuffrida Rogério, Sgrignoli Marcos Rogério, Santos Daniela Rodrigues, Donadão Isabela Vasconcelos, Nascimento Felipe Franco, Dinallo Heloise Rangel, Andrade Silvia. Franco. Oral omega 3 in different proportions of EPA, DHA, and antioxidants as adjuvant in treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Arquivo Brasileiro de Oftalmologia*. [periódico na internet] 2018. [citado 2022 set 20]; 81(5): 421-428. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/0004-2749.20180081>
16. Zulim Luís Felipe da Costa , Nai Gisele Alborgetti, Giuffrida Rogério, Pereira Carolina Silva Guimarães, Benguella Hugo, Cruz Aline Gutierrez, Foglia Bruna Toledo Duran, Batista Aline Silveira, Andrade Silvia Franco. Comparison of the efficacy of 0.03% tacrolimus eye drops diluted in olive oil and linseed oil for the treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Arquivo Brasileiro de Oftalmologia*. [periódico na internet] 2018 [citado 2022 set 20]; 81(4): 293-301. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/0004-2749.20180059>
17. Webb, A. A; Cullen, C. L. Neuro-Ophthalmology. In: Gelatt, K.N. *Veterinary Ophthalmology*. 6 ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2021, p. 2237- 2328. USA (www.ajllobby.com)
18. Pereira Carolina Silva Guimarães, Zulim Luís Felipe da Costa, Giuffrida Rogério, Cruz Aline Gutierrez, Foglia Bruna Toledo Duran, Hugo Benguella, Aline Silveira. Batista, Silvia Franco Andrade Antimicrobial susceptibility and minimal inhibitory concentration of bacteria isolated from the eyes of dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Rio de Janeiro. Pesquisa Veterinária Brasileira*. [periódico na internet] 2019 set [citado

- 2022 set 20]; 39(9): 757-763 Disponível em: DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-6200
19. Sussadee M, Rucksaken R, Havanapan P, Reamtong O, Thayanunphat A. Changes in tear protein profile in dogs with keratoconjunctivitis sicca following topical treatment using cyclosporine A. *Veterinary World* [Internet]. 2021 jun [citado 2022 jul 26]; 14(6):1711-1717. Disponível em: <http://www.veterinaryworld.org/Vol.14/June-2021/38.pdf>. Thailandia (doi: www.doi.org/10.14202/vetworld.2021)
 20. Andrade AL. Semiologia do Sistema Visual dos Animais Domésticos. In: Feitosa, F. L. F: *Semiologia Veterinária. A arte do Diagnóstico*. 4 ed . Rio de Janeiro: Roca, 2023, p. 551-571.
 21. Silva LauraR, Gouveia Anderson F, Fátima Cleyber J. T, Oliveira Letícia B, Reis JR Janildo L, Ferreira Renato F, Pimentel Concepta. M, Galera, Paula D. Tear ferning test in horses and its correlation with ocular surface evaluation. *Veterinary Ophthalmology*. [periódico na internet] 2016 [citado 2021 jun 18]; 19(2): 117-123. Disponível em: DOI:10.1111/vop.1226
 22. Williams David, Hewitt Heather. Tear ferning in normal dogs and dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Open Veterinary Journal*. [periódico na internet] 2017 [citado 2023 ago 19]; 7(3): 268- 272. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4314/ovj.v7i3.11>
 23. Fayad André R, Lobo Thaissa V., Silva Rayanne Henrique, Neves Carla Amorim, Arnold Emmanuel, Lima Aline Maria V, Moura Veridiana MBD. Dry-eye syndrome in Shih Tzu dog. Ocular surface clinical and morphological aspects in the different stages of keratoconjunctivitis sicca. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, [periódico na internet] 2023 [citado 2024 jan 29]; 43(e07270) 1-13. Disponível em: DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7270
 24. Sebbag Lionel, Sanchez Rick F. The pandemic of ocular surface disease in brachycephalic dogs: The brachycephalic ocular syndrome. *Veterinary Ophthalmology*. [Internet] 2023 dez [citado 2024 jan 29]; 26:31-46. Disponível em: wileyonlinelibrary.com/journal/vop. Israel (DOI: 10.1111/vop.13054)
 25. Vatnikov Yury Anatolyevich, Sergeevicherin Ilya, Suleimanov SuleimanMukhitdinovich, Kulikov EvgenyVladimirovich, Seleznev Sergey Borisovich, Lutsay Vladimir Ivanovich, Popova Irina Anatolyevna, Strizhakov Aleksandr Anatolyevich, Vilkovysky Ilya Fedorovich. Effect of Autologous Plasma Treatment on the Cornea Regeneration with Keratoconjunctivitis Sicca in Dogs.

- Journal of Animal Health and Production [periódico na internet] 2020 [citado 2022 set 25]; 8(1): 1-7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.jahp/2020/8.1.1.7>
26. Amalfitano Claudia, Pasolini Maria Pia, Nieddu Annalisa, Della Valle Giovanni, Fiorentin Pier Giorgio, Lamagna Francesco, Lamagna Barbara. The effect of periocular fatty acids and 0.15% hyaluronate eye drops application on keratoconjunctivitis sicca in dogs: an exploratory study. Topics in Companion Animal Medicine [periódico na internet] 2019 [citado 2024 mai 10]; 1(27): 1-27. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2019.03.001>
27. Herring I. P. Clinical Pharmacology and Therapeutics, part 4. In: Gelatt, K.N. Veterinary Ophthalmology. 6ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2021. p. 435-444. USA (www.ajllobby.com)
28. Williams David L. Optimising tear replacement rheology in canine kerat. Eye [Internet] 2018 [citado 2022 jul 26]; 32: 195–199. Disponível em: www.nature.com/eye. Cambridge (doi:10.1038/eye.2017.272).
29. Miller P. E. Basic Structure and Function of the Eye. In: Maggs, D. J.; Miller, P. E., Ofri, R. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. 5ed St. Louis: Elsevier, 2013. p. 21.
30. Rolando M. Tear mucus ferning test in normal and keratoconjunctivitis sicca eyes. Chibret International Journal Ophthalmology. 1984 2(4)32-41.

CAPÍTULO 2. PADRONIZAÇÃO DA QUALIDADE DA LÁGRIMA EM CÃES DA RAÇA SHIH TZU

STANDARDIZATION OF TEAR QUALITY IN SHIH TZU DOGS

RESUMO

Os cães da raça Shih Tzu são de origem asiática e atualmente é uma das raças de maior preferência para animais de companhia, por ser dócil e pequeno. Essa raça possui predisposição à síndrome ocular braquicefálica e ceratoconjuntivite seca devido sua anatomia e fisiologia., uma vez que alterações em pálpebras, córnea e filme lacrimal associados a uma órbita rasa estão presentes na maioria dos caninos. O filme lacrimal pré-corneal (FLPC) tem a função de manter a superfície ocular uniforme, sendo assim, possui três camadas complexas e intrinsecamente misturadas, que são lipídica, aquosa e mucosa. Os exames clínicos empregados para detectar as alterações no FLPC apresentam baixo custo, fácil implementação e execução na rotina clínica de pequenos animais. Os exames realizados na rotina oftálmica são o teste de Schirmer, para avaliar a porção aquosa da lágrima e o tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL), que indica a deficiência indireta de mucina. O estudo teve por objetivo, estudar 46 cães saudáveis entre um e 13 anos de idade, para padronizar e verificar a qualidade da lágrima, observando se houve alterações entre os olhos direito e esquerdo e/ou bilateral, quanto a associação da interferência da idade, sexo e estado reprodutivo, na produção e qualidade da lágrima. A análise estatística tem confiança de 95%, os testes realizados foram de Shapiro-wilk, Levene, teste de T e teste de Fisher. Os valores médios encontrados para o TS foram de $20,17 \pm 7,25$ mm/min e para o TRFL foi de $15,90 \pm 7,7$ segundos. Como resultados, verificou-se anormalidade para TS olho direito em animais jovens de (12 a 18 meses de idade) e TRFL olho esquerdo em animais jovens e bilateral, já no teste de Fischer os valores encontrados foram muito baixos, não sendo significativos. No teste de Levene não houve homogeneidade no TS quanto a idade $p\text{-valor} \geq 0,03936$. No teste T, não houve diferença entre as médias de grupos. Conclui que as características como sexo e estado reprodutivo não interferem na produção e qualidade da lágrima de cães saudáveis, mas a idade interfere negativamente. O TRFL é menor para os Shih tzu quando comparada com outras raças caninas, apresentam deficiência qualitativa sem sinais clínicos evidentes. A idade interfere na produção e na qualidade da lágrima desses cães. A ceratoconjuntivite seca qualitativa e/ou quantitativa pode apresentar em momentos diferentes no mesmo indivíduo canino; a prevenção se faz necessário para melhor saúde ocular dos Shih Tzus.

Palavras-chaves: Ceratoconjuntivite Seca, Idade, Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal, Teste de Schirmer, Shih Tzu.

ABSTRACT

Shih-Tzu dogs are of Asian origin and are currently one of the most popular breeds for pets, as they are docile and small. This breed is predisposed to brachycephalic ocular syndrome and keratoconjunctivitis sicca due to its anatomy and physiology, since alterations in the eyelids, cornea and tear film associated with a shallow orbit are present in most canines. The pre-corneal tear film (PCF) has the function of keeping the ocular surface uniform, so it has three complex and intrinsically mixed layers, which are lipid, aqueous and mucous. The clinical tests used to detect alterations in the CLF are low-cost, easy to implement and perform in the clinical routine of small animals. The tests carried out in the ophthalmic routine are the Schirmer test, to assess the aqueous portion of the tear, and the tear film break-up time (TRFL), which indicates indirect mucin deficiency. The aim of the study was to study 46 healthy dogs between one and 13 years old, to standardize and verify tear quality, observing whether there were any changes between the right and left and/or bilateral eyes, as well as the association between age, gender and reproductive status on tear production and quality. The statistical analysis has 95% confidence and the tests carried out were Shapiro-wilk, Levene's, T-test and Fisher's test. The mean values found for TS were 20.17 ± 7.25 mm/min and for TRFL 15.90 ± 7.7 seconds. The results showed that there was an abnormality in the TS of the right eye in young animals (12 to 18 months old) and in the TRFL of the left eye in young and bilateral animals, while the values found in the Fischer test were very low and not significant. In Levene's test, there was no homogeneity in the TS in terms of age $p\text{-value} \geq 0.03936$. In the T-test, there was no difference between the group means. The conclusion is that characteristics such as sex and reproductive status do not interfere with tear production and quality in healthy dogs, but age does. The TRFL is lower in the Shih Tzu, which has a qualitative deficiency without obvious clinical signs. Age interferes with tear production and quality in these dogs. Qualitative and/or quantitative keratoconjunctivitis sicca can occur at different times in the same canine; prevention is necessary to improve the ocular health of Shih Tzus.

Key-words: age, keratoconjunctivitis sicca, tear film break-up time, Schirmer test, ShihTzu.

INTRODUÇÃO

A raça canina Shih Tzu, originária do Tibete, são cães pequenos e de companhia, com temperamento dócil e tranquilo. E está entre as 20 raças mais populares do mundo, de acordo com o American Kennel Club (Sebbag et al., 2023a) e no Brasil, segundo o PetCenso 2021, está em segundo lugar de preferência (12%) (Couto, 2022), adicionalmente é uma das raças mais comumente atendidas na clínica veterinária de pequenos animais e centros de referências em atendimentos oculares (Sebbag et al., 2023a).

A Ceratoconjuntivite seca (CCS) é uma doença inflamatória da córnea e da conjuntiva, ocasionada por alteração quantitativa e/ou qualitativa do filme lacrimal pré-corneal. Os cães da raça Shih Tzus são os que apresentam em maior número com queixa ocular durante os atendimentos clínicos por serem braquicefálicos, cuja anatomia craniana expõe mais a superfície ocular, devido a órbita rasa, associado as alterações palpebrais como macrobléfaro e lagofthalmia, além das ciliares como distiquíase, triquíase e cílios ectópicos (Kobashigawa et al., 2015, Paula et al., 2018; Zulim et al., 2018; Sussadee et al., 2021; Sebbag et al., 2023b).

As alterações de superfície corneana, pálpebras e cílios são observados no exame clínicos, essas alterações podem influenciar na produção e qualidade da lágrima. O exame clínico para avaliação da superfície ocular são: o Teste Schirmer (TS) para avaliar a porção aquosa da lágrima, o Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal (TRFL) que avalia a camada lipídica e a camada interna do filme lacrimal indiretamente; o Teste de Cristalização da Lágrima (TCL) permite a mensuração indireta da osmolaridade do Filme Lacrimal Pré-Corneal (FLPC) (Oriá et al., 2017; Sussadee et al., 2021). O presente estudo teve como objetivo padronizar a qualidade da lágrima dos cães saudáveis da raça Shih-Tzu, avaliar a ocorrência na produção lacrimal bilateral, unilateral (olho direito e olho esquerdo) e verificar se os caracteres de idade, sexo e estado reprodutivo interferem na qualidade da lágrima.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Clínica Veterinária São Francisco, em Santo Antônio da Platina, Paraná, Brasil, no período de setembro a dezembro de 2023, no qual foram realizadas avaliações oculares de 46 cães da raça Shih-Tzu, 23 fêmeas e 23 machos, com idade entre um e 13 anos sem anormalidades oculares e sistêmicas.

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animal (CEUA) da Universidade Estadual de Londrina com o número do protocolo CEUA/UEL nº 033.2023, sendo este isento de estresse e dor. Os animais que apresentaram olhares de medo, com tremores corporais e tentavam morder, fugir ou movimentavam bruscamente a cabeça, foram excluídos do experimento. Todos os 46 cães foram acompanhados por um médico veterinário durante o experimento, cuja duração do estudo foi de aproximadamente uma hora e meia por animal.

Os animais foram divididos em grupos de acordo com a faixa etária, sendo classificados como AJ: adulto jovem (12 a 18 meses); AD: adulto (19 meses a sete anos) e I: idoso (oito a 13 anos) (Oriá et al., 2017).

Os animais foram submetidos a consulta oftalmológica prévia. Foram executadas a semiotécnica de rotina com aferição da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e pressão arterial sistêmica (PAS), foram mensurados seguidos do exame oftálmico de simetria facial, alterações palpebrais, avaliação de periórbita, movimentação de cabeça (reflexo vestibular), estrabismo, andar em sala clara e escura, avaliação da face interna das pálpebras, córnea, esclera e íris com o auxílio da lupa de pala de aumento de 3,5 x e lanterna, seguidos de exames neurooftálmicos (teste de resposta a ameaça bilateral, reflexo pupilar direto e consensual, reflexo corneal) e os testes para avaliar o FLPC, como teste da lágrima de Schirmer (TS), teste de TRFL e TCL (Madruga et al., 2018; Sussadee et al., 2021, Andrade, 2023). Para não haver interferência entre os testes TS, TRFL e TCL, os animais aguardaram 30 minutos entre os exames.

O TS (Figura 1) foi realizado com a tira de papel (Schirmer Strips®, Ophthalmic Strips) no saco conjuntival inferior durante um minuto em cada olho, primeiramente no olho direito seguido do olho esquerdo (Madruga et al., 2018). Os resultados obtidos posteriormente utilizados para classificar os animais em prognóstico ruim (0 a 5 mm/min) – portadores de olhos secos; prognóstico reservado (6 a 10 mm/min) – portadores de olho seco; prognóstico favorável (11 a 15 mm/min); prognóstico bom (acima de 15 mm/min) (Madruga et al., 2018).



FIGURA 1

Teste de Schirmer avaliados em 92 olhos de cães da raça Shih Tzu de um a 13 anos de idade.

O teste de TRFL foi realizado com Fluoresceína (FLUDIAG®, Fluoresceína Sódica 1%, Oftalmopharma), sendo instilado uma gota sobre cada olho e avaliou sob a luz de cobalto, para observação da aderência do corante sobre a córnea e o tempo da quebra do FLPC em tempo ≥ 19 segundos, e lavado com solução salina para posterior remoção do corante (Madruga et al., 2018; Smith et al., 2020).

Os dados obtidos dos 46 animais, ou seja, 92 olhos, foram analisados estatisticamente para avaliação dos parâmetros olho direito, esquerdo e ambos os olhos, idade, sexo e estado reprodutivo. O Teste de Shapiro-

Wilk, realizado para avaliar a normalidade das amostras partindo do pressuposto em que o p-valor $> 0,05$, indica que os dados apresentam normalidade. Teste de Fisher para verificar se existe ou não uma associação significativa entre duas variáveis categóricas, para isso p-valor: $> 0,05$, as duas variáveis são consideradas independentes (Kim et al., 2022). Para analisar a homogeneidade das variâncias, foi analisado por Levene, para que o p-valor seja $> 0,05$ e Teste T para verificar se a média das amostras de dois grupos são iguais, portanto o p-valor seja $> 0,05$. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa computacional software R.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram avaliados 92 olhos sem sinais clínicos evidentes de CCS, de 46 animais, destes 23 eram fêmeas, dessas 12 castradas e 11 não castradas, e 23 machos, 11 castrados e 12 não castrados. Distribuídos por grupos de faixa etária, sendo classificados como AJ: adulto jovem (12 a 18 meses, quatro fêmeas e três machos); AD: adulto (19 meses a sete anos, 18 fêmeas e 15 machos) e I: idoso (oito a 13 anos, uma fêmea e cinco machos), conforme demonstra a Tabela 1.

Tabela 1

Distribuição de cães da raça Shih Tzu participantes do experimento da avaliação qualitativa e quantitativa da lágrima de acordo com a classificação por faixa etária, sexo e estado reprodutivo.

AJ	Castrado	Não Castrado	Total
Fêmea	1	3	4
Macho	2	1	3
AD			
Fêmea	10	8	18
Macho	6	9	15
I			
Fêmea	1		1
Macho	3	2	5
Total	23	23	46

Legenda: AJ - adulto jovem (12 a 18 meses); AD: adulto (19 meses a 7 anos) e I: idoso (8 a 13 anos).

Os dados coletados foram agrupados como numéricos para TS, TRFL, FC, FR, TR, PAS e categóricos para olhos, idade e sexo, estado reprodutivo e grau de cristalização da lágrima. Os olhos com testes normais foram definidos na interpretação dos resultados de TS e TRFL de cada animal, classificados com S (animais que apresente TS e TRFL fora dos valores de referência, portador de CCS assintomático), N (para animais que

apresente TS e TRFL dentro dos valores de referência, animais sem sinais de CCS). O sexo foi classificado como, F para fêmea e M para os machos. O estado reprodutivo foi denominado como castrados ou não castrados.

As análises estatísticas foram agrupadas para melhor interpretação dos dados coletados, e foram divididas em grupos denominados como: OD para olho direito; OE para olho esquerdo; Média para ambos os olhos de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2

Média e Desvio Padrão de valores de Teste de Schirmer e Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal avaliados em 92 olhos de cães da raça Shih Tzu de um a 13 anos de idade.

Média e Desvio Padrão					
Variável	OD (n=46)	OE (n=46)	Média entre os olhos (OD e OE) (n=92)	min.	máx.
Teste de Schirmer	20,6mm/min \pm 2,04	19,73mm/min \pm 2,69	20,17mm/min \pm 7,25	9mm/min	29mm/min
Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal	15,73" \pm 2,22	16,06" \pm 0,90	15,90" \pm 7,70	4"	33"

A média do Teste de Schirmer encontrada foi de $20,17 \pm 7,7$ mm/minuto, que está abaixo do que Fayad et al., (2023); $22,6 \pm 2,69$ mm/min; Sebbag et al. (2023a) $24,2 \pm 4,7$ mm/min e Kobashigawa et al. (2015) $26,145 \pm 0,803$ mm/min; encontraram em seus estudos com os cães da raça Shih Tzu, mas dentro do prognóstico favorável do exame clínico $18,64 \pm 4,47$ a $23,90 \pm 5,12$ para cães e a absorção da lágrima na tira de papel filtro não é linear como já descrito por Featherstone & Heinrich (2021).

Quanto a média do Tempo de Ruptura do filme lacrimal para cães da raça Shih Tzu, Kobashigawa et al. (2015) encontraram foi de $13,668 \pm 0,538$ s, Fayad et al. (2023) $13 \pm 3,68$ ", Sebbag et al. (2023a) $5,3 \pm 2,4$ e Featherstone & Heinrich (2021) de $19,7 \pm 5$ a $21,53 \pm 7,42$ " encontraram para cães, porém todos utilizaram a biomicroscopia com lâmpada de fenda em aumento de 16x. A média encontrada neste estudo foi de $15,90" \pm 7,7$ com a luz de cobalto e lupa de pala com aumento de 3,5 x, está abaixo que Featherstone & Heinrich (2021) encontraram e acima que Fayad et al.(2023), Sebbag et al. (2023a) e Kobashigawa et al.(2015), portanto, está dentro da média de deficiência qualitativa, uma vez que os Shih Tzu saudáveis eles possuem uma média do TRFL menor que o valor de literatura para cães normais, pois tem uma densidade menor de células caliciformes na conjuntiva em comparação com outros cães (Kobashigawa et al., 2015).

Os valores médios encontrados no trabalho para TS e TRFL estão de acordo com a literatura, pode-se observar a deficiência qualitativa, devido um aumento da evaporação da lágrima precocemente devido à alteração morfológica das glândulas de meibômio, por outro lado, os Shih Tzus possui um TS normal, mas a

alteração na camada de mucina resultante da redução da densidade das células caliciformes da conjuntiva pode estar associado as alterações anatômicas das raças braquicefálicas, apresentando uma maior exposição da superfície ocular (Fayad et al, 2023, Sebbag et al., 2023a).

As análises estatísticas realizadas no programa computacional R para teste de Shapiro Wilk, Teste de Levene e Teste Fischer foram observadas anormalidades conforme demonstra a Tabela 3.

Tabela 3.

Valores dos Testes Estatísticos realizados por meio do programa computacional R, em 46 cães da raça Shih Tzu sem alterações clínicas oculares e sistêmicas, para observar normalidade dos dados foram implantado p-valor: > 0,05.

Shapiro-Wilk	Média de OD+OE
TRFL	p-valor = 0,0416
Levene	
TS x Idade	p-valor = 0,03936
Fisher	
TS: Idade x Sexo	p-valor < 2,2e-16
TRFL: Idade x Sexo	p-valor < 2,2e-16
TRFL: Idade x Castrado	p-valor = 7,754e-08
TRFL: Castrado x Sexo	p-valor = 6,258e-05

Legenda: Teste de Schirmer (TS); Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal (TRFL); Adulto Jovem (AJ); Olho Direito (OD); Olho Esquerdo (OE).

Os Shih Tzus apresentam no teste de Shapiro-Wilk anormalidade em TRFL por apresentar um p-valor = 0,0416. Não houve homogeneidade da variância em TS x Idade. No teste T, não demonstrou diferença na média de grupos, ou seja, não há interferência entre idade, sexo, estado reprodutivo para TS e TRFL em concordância com o estudo de Sebbag et al. (2023b).

O teste Fischer tanto para TS como TRFL observou-se dependência das amostras como demonstra a Tabela 3, mas como p-valor é muito baixo, os resultados não possuem significância, portanto, as características de sexo e estado reprodutivo não interferem nos testes de TS e o TRFL concordando com Sebbag et al. (2023b); em que os resultados dos testes não houve alteração em sexo; mas a idade teve uma correlação negativa para TRFL, conforme foi verificado nessa pesquisa. A secreção lacrimal aquosa pode permanecer normal com o avanço da idade, devido um mecanismo compensatório para o desenvolvimento de uma deficiência do filme lacrimal (Sebbag et al. 2023b).

Os cães braquicefálicos possui 14% a menos da porção aquosa da lágrima em comparação com os cães não braquicefálicos, devido a exoftalmia que esses cães apresentam, sem apresentar sinais de doenças oculares com um achado atribuído a menor sensibilidade corneana e ao seu impacto negativo na via aferente da lágrima (Sebbag et al. 2023b, Vitor et al., 2024).

O TRFL abaixo de 15 segundos para os cães Shih Tzu; quando avaliado com luz de cobalto e lupa de

pala a 3,5x ou 13 segundos na biomicroscopia de lâmpada de fenda; pode ocorrer em animais idosos por diminuir a taxa de rotatividade da lágrima com o passar dos anos tanto em cães, gatos e humanos, pois ao envelhecer, reduz a velocidade do ato de piscar e o filme lacrimal não espalha corretamente sobre a córnea, portanto ocorre um déficit no escoamento pelo ducto nasolacrimal, uma vez, que esse mecanismo leva um tempo maior para acontecer; contribuindo para uma maior evaporação do filme lacrimal (Sebbag et al., 2019, Vitor et al., 2024).

CONCLUSÃO

Os Shih Tzu apresentam produção lacrimal normal, mas podem apresentar deficiência qualitativa mesmo sem sinais clínicos evidentes, tendo em vista que o tempo de ruptura do filme lacrimal na raça é menor.

A idade interfere na produção e na qualidade da lágrima desses cães, por isso podem apresentar a Ceratoconjuntivite seca qualitativa e/ou quantitativa simultaneamente ou em momentos diferentes no mesmo indivíduo.

REFERÊNCIAS

- Andrade, A.L. (2023). Semiologia do Sistema Visual dos Animais Domésticos. In: Feitosa, F. L.F.: Semiologia Veterinária. A arte do Diagnóstico (4ed, Cap. 15, pp. 551-571). Roca
- Couto, G. (2022, Agosto 2). Pesquisa revela que Shih-tzu é a segunda raça de cães mais querida do Brasil. Cães & Gatos. <https://caesegatos.com.br/pesquisa-revela-que-shih-tzu-e-a-segunda-raca-de-caes-mais-querida-do-brasil/>
- Fayad, R. A.; Lobo, T.V; Silva, R. H.; Neves, C. A.; Arnold, E.; Lima, A.M.V & Moura, V.M.B.D. (2023) Dry-eye syndrome in Shih Tzu dog: Ocular surface clinical and morphological aspects in the different stages of keratoconjunctivitis sicca. *Pesq. Vet. Bras.* (43),1-13. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7270.
- Featherstone, H. J. & Heinrich, C. L. H. (2021) Ophthalmic Examination and Diagnostics. In: Gelatt, K.N., *Veterinary Ophtalmology* (6ed., Cap. 10, pp. 564- 661). Wiley-Blackwell .
- Kim, Y.; Kang, S.; Kim, S.; Shim, J.; Go, S. & Seo, K. (2022). Reference values for selected dry eye tests in normal Beagle dogs: a pilot study. *J Vet Sci.*, 23(1):e10, 1-12. <https://doi.org/10.4142/jvs.21169>.
- Kobashigawa, K. K., Lima, T. B.; Padua, I.R.M; Barros, A. A. F., Sobrinho; Marinho, F.A.; Ortêncio, M. K. P.& Laus, J. L. (2015). Ophthalmic parameters in adult Shih Tzu dogs. *Ciência Rural*, v.45 (7), p.1280-1285. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20141214>

- 1 Madruga, G.M.; Ribeiro, A.P.; Magalhães, T.B.S.; Rondelli, L.A.S. & Furlan, F.H. (2018). Effect of 0.15%
 2 sodium hialuronate and 0.5% carboxymethylcellulose on tear film breakup time in healthy dogs and in dogs
 3 with keratoconjunctivitis sicca Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 70(5), 1388-1396.
 4 <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9733>.
- 5 Oriá, A. P; RAPOSOSO, A.C.S.; ARAUJO, N.L.L.C; LIMA, F. B.L & MASMALI, A. M. (2017). Tear ferning
 6 test in healthy dogs, Veterinary Ophthalmology, 1–8. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vop.12524>.
 7
- 8 Paula, L. V.; Carvalho, L. R. O, Freitas, T. G., Vitor, T. L. & Amara, A. V. C. (2018). Prevalência de
 9 Ceratoconjuntivite seca em cães no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Jataí. Enciclopédia
 10 Biosfera, Centro Científico Conhecer, v.15(28); 815-826. DOI: 10.18677/EnciBio_2018B126.
 11
- 12 Sebbag, L; Albaugh, R. A. Wehrman, R. F; Uhl, L.K; Ben-Shlomo, G.; Chen, T. & Mochel, J.P. (2019)
 13 Fluorophotometric Assessment of Tear Volume and Turnover Rate in Healthy Dogs and Cats. Journal of ocular
 14 pharmacology and therapeutics. 9,497-502. DOI: 10.1089/jop.2019.0038.
- 15 Sebbag, L. & Sanchez. R.F. (2023b). The pandemic of ocular surface disease in brachycephalic dogs: The
 16 brachycephalic ocular syndrome. Veterinary Ophthalmology. 26, 31-46. DOI: 10.1111/vop.13054.
 17
- 18 Sebbag, L.; Silva, A. P. S.M; Santos, A. P. B; Raposo, A. C. S. & Oriá, A. P. (2023a). An eye on the Shih Tzu
 19 dog: Ophthalmic examination findings and ocular surface diagnostics. Veterinary Ophthalmology. 26, 59-71,
 20 DOI: 10.1111/vop.13022.
- 21
- 22 Smith, S. M; Holt, E. & AGUIRRE, G. D. (2022) Conjunctival staining with lissamine green as a predictor of
 23 tear film deficiency in dogs, Willey. 00:1–8. DOI: 10.1111/vop.12762.
 24
- 25 Sussadee, M.; Rucksaken, R.; Havanapan, P.; Reamtong, O. & Thayanunphat, A. (2021). Changes in tear
 26 protein profile in dogs with keratoconjunctivitis sicca following topical treatment using cyclosporine A.
 27 Veterinary World, 14(6), 1711-1717. doi: www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.1711-1717.
 28
- 29 Vitor, R. C. Teixeira, J. B. C; Santos, K. C.; Oliveira, G. M. S.; Guedes, P. E. B.; Sevá, A. P.; Gomes, D. C.,
 30 Jr; Veloso, J. F.; Carlos, R. S. A. (2024). Shih-Tzu dogs show alterations in ocular surface homeostasis despite
 31 adequate aqueous tear production. Acta Veterinaria Scandinavica, 66(3), 1-7 DOI:
 32 <https://doi.org/10.1186/s13028-024-00724-2>.
 33
- 34 Visser, H. E.; Tofflemire, K.L.; Love-Myers, K. R.; Allbaugh, R. A; Ellinwood, N. M.; Dees, D. D.; Bem-
 35 Shlomo, G. & Whitley, R. D. (2017). Schirmer tear test I in dogs: results comparing placement in the ventral
 36 vs. dorsal conjunctival fornix, Veterinary Ophthalmology. 1-4. DOI:10.1111/vop.12462.
 37

- 1 Williams,D. & Hewitt, H. (2017) Tear ferning in normal dogs and dogs with keratoconjunctivitis sicca. Open
2 Veterinary Journal, 7(3), 268-272. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ovj.v7i3.11>.
3
- 4 Zulim, L. F. C.; Nai; G. A.; Giuffrida, R.; Pereira, C. S. G.; Benguella; H.; Cruz, A. G.; Foglia, B. T. D.;
5 Batista; A. S. B. & Andrade, S. F. (2018) Comparison of the efficacy of 0.03% tacrolimus eye drops diluted
6 in olive oil and linseed oil for the treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. Arq Bras Oftalmol, 81(4),
7 293-301. <http://dx.doi.org/10.5935/0004-2749.20180059>.
8

CAPÍTULO 3: Critérios da avaliação e leitura do teste de cristalização da lágrima em cães da raça Shih Tzu

Criteria for evaluating and reading the tear ferning test in Shih Tzu dogs

RESUMO

O trabalho teve por objetivo estudar 46 cães saudáveis (23 machos e 23 fêmeas) da raça Shih Tzu, de um a 13 anos, para avaliar o teste de cristalização da lágrima e verificar se houve alteração no FLPC quanto a interferência da idade, sexo, estado reprodutivo e analisar se a temperatura e a umidade interferem no tempo e grau de cristalização e verificar se pode ser implantado na rotina clínica preventiva de ceratoconjuntivite seca. Uma gota da lágrima de cada olho foi coletada e colocada sobre lâmina de vidro e deixada secar em temperatura e umidade ambiente e controladas por aparelho Termo-higrômetro. Observou-se a cristalização sobre microscopia com aumento de 40x, para analisar o tipo de cristalização. Análises estatísticas realizadas foram correlação em V de Cramér para idade, sexo e estado reprodutivo e correlação de Pearson para umidade e temperatura. A maior ocorrência foi a cristalização do tipo III a temperatura ambiente variou de 22°C a 35°C, a umidade de 41% a 71% e o tempo da cristalização de 10 minutos a 120 minutos. A correlação foi moderada para idade, estado reprodutivo, temperatura e umidade sobre o tempo e o grau da cristalização. Conclui-se que cães saudáveis podem apresentar tipo IV da cristalização e o tempo pode influenciar no resultado. A técnica utilizada pode ser aplicada na rotina clínica preventiva de ceratoconjuntivite seca por médicos veterinários.

Palavras-Chave: Ceraconjuntivite seca, filme lacrimal pré-corneal, prevenção, temperatura, umidade.

SUMMARY

The aim of this study was to examine 46 healthy dogs (23 males and 23 females) aged between one and 13 years old, of the Shih Tzu breed, in order to evaluate the tear crystallization test and see if there were any changes in the CLF in terms of age, gender, reproductive status and to analyze whether temperature and humidity interfere with the time and degree of crystallization. A drop of the tear was collected and placed on a glass slide and left to dry at room temperature and humidity controlled by a thermo-hygrometer, after which crystallization was observed under microscopy at 40x magnification to analyze the type of crystallization. The statistical analyses carried out were Cramér's V correlation for age, sex and reproductive status and Pearson's correlation for humidity and temperature. Type III crystallization was the most common. The temperature ranged from 22°C to 35°C, the humidity from 41% to 71% and the crystallization time from 10 minutes to 120 minutes. There was a moderate correlation between age, reproductive status, temperature and humidity and crystallization time and degree. It is concluded that healthy dogs can present type IV crystallization and the time can influence the result. The technique used can be applied in routine clinical prevention of keratoconjunctivitis sicca by veterinarians.

Key - words: Keraconjunctivitis sicca, pre-corneal tear film, prevention, temperature, humidity.

50 INTRODUÇÃO

51

52 Os cães braquicéfálicos, possuem predisposição a ceratoconjuntivite seca (CCS) e
53 enfermidades da superfície ocular, devido a anatomia craniana, composta por órbita
54 ocular rasa associado a exoftalmia, macrobléfaro, lagofthalmia, o que dificulta o
55 fechamento das pálpebras e a distribuição do filme lacrimal pré-corneal (FLPC)
56 (Kobashigawa et al., 2015; Hendrix et al., 2021; Sebbag et al., 2022). A CCS é uma
57 doença multifatorial que promove dano na superfície ocular, ocasionada por uma
58 instabilidade do FLPC (Tsubota et al., 2017, Willians; 2018, Smith et al., 2020).

59 O Teste de Cristalização da Lágrima (TCL) mensura indiretamente a osmolaridade
60 do FLPC auxiliando no diagnóstico precoce de CCS (Sussadee et al., 2021; Oriá et al.,
61 2017). A cristalização da lágrima na lâmina de vidro acontece pela evaporação da água e
62 a dessecação dos solutos ou cristaloides (proteína, sais e mucina). Falhas nesse processo
63 caracterizam para a Classificação de Rolando e a escala de Masmali demonstrando a
64 deficiência qualitativa do FLPC (Traipe-Castro et al., 2014, Masmali et al, 2014).

65 A cristalização da lágrima, tem aspecto de folha de samambaia e Rolando (1984)
66 classificou os achados em quatro grupos distintos, conforme a presença e exuberância
67 destas folhas, sendo que os padrões encontrados se diferem entre as lágrimas de
68 indivíduos normais e com deficiências. No padrão de Cristalização do tipo I, as estruturas
69 se apresentam uniformes sem espaços entre as ramificações; no tipo II; pequenos espaços
70 começam a aparecer, mas continuam presentes as ramificações; no tipo III; há grandes
71 espaços com ramificações pobres, e no tipo IV a cristalização está ausente (Oriá et al.,
72 2017; Featherstone e Henrich, 2021).

73 A classificação segundo Rolando (1984) tem 94% de sensibilidade e 74% de

especificidade e a escala de Masmali et al. (2014) foi criada para reduzir as lacunas existentes na classificação de Rolando (1984), por isso sua escala varia de grau 0 a grau 4. Oriá et al. (2017) aplicaram para avaliar cães, demonstrando que as duas escalas podem ser utilizadas. Este estudo teve como objetivo avaliar o teste de cristalização dos cães da raça Shih Tzu, sem sinais clínicos oculares de CCS, sem sinais clínicos sistêmicos, avaliar a influência de umidade e temperatura no tempo da cristalização, verificar se a idade, sexo e estado reprodutivo têm influência na cristalização e verificar se pode ser implantado na rotina clínica preventiva para CCS.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado na Clínica Veterinária em Santo Antônio da Platina, no período entre setembro e dezembro de 2023, avaliação ocular de 46 cães da raça Shih Tzu, 23 fêmeas e 23 machos, com idade entre um e 13 anos, sem alterações oculares e sistêmicas. O projeto de pesquisa obteve aprovação do Comitê de Ética de Uso de Animal (CEUA) da Universidade Estadual de Londrina com o número do protocolo CEUA/UEL nº 033.2023.

Os tutores autorizaram a utilização dos animais no projeto de pesquisa, por meio do Termo de Livre Consentimento. Os animais que não apresentaram boas condutas, ou seja, olhares amedrontados, tremores corporais, tentavam morder, fugir ou movimentos bruscos de cabeça durante os exames oftálmicos, foram excluídos do experimento. Todos os tutores receberam no final do experimento as orientações específicas de cada cão e tiveram o resultado do teste individualmente.

Os animais foram distribuídos em grupos conforme a faixa etária em adultos jovem (12 a 18 meses); adulto (19 meses a sete anos) e idoso (oito a 13 anos), para melhor

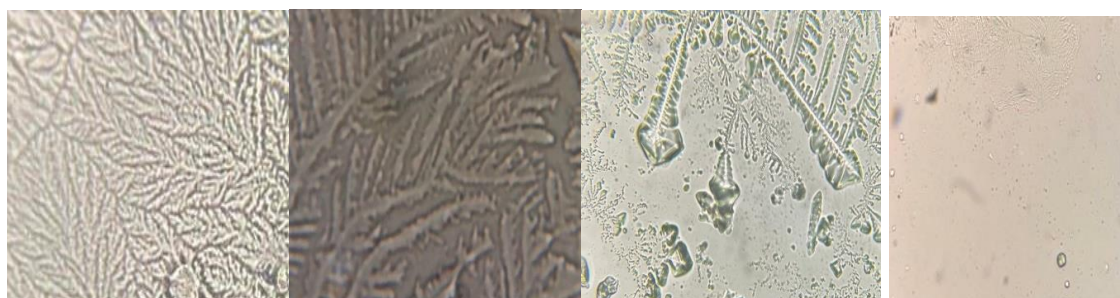
classificação dos parâmetros. Sendo assim, durante a avaliação incluiu-se a aferição da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e pressão arterial sistêmica (PAS) seguidos do exame oftálmico. Observou-se a simetria facial, alterações palpebrais, avaliação de periórbita, movimentação de cabeça (reflexo vestibular), estrabismo, andar em sala clara e escura, avaliação interna das pálpebras, córnea, esclera e íris com o auxílio da lupa de pala de aumento de 3,5 x e lanterna, seguidos de exames neurooftálmicos (resposta de ameaça bilateral, reflexo pupilar direto e consensual, reflexo corneal), e os testes intraoculares como Teste de Schirmer (TS), Tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL), Teste de cristalização da Lágrima (TCL) (Madruga et al., 2018; Sussadee et al., 2021, Andrade, 2023). Para não haver interferência entre os testes TS, TRFL e TCL, os animais aguardaram 30 minutos entre os exames.

O TCL para ser realizado, foi coletada uma porção de lágrima de 3mm, com pipeta de 10 μ inserida no fórnice conjuntival inferior do olho direito e esquerdo, e depositada sobre uma lâmina de vidro, para a formação de cristais, após secar a temperatura ambiente e umidade do ar relativa de 50 -75%. A temperatura e a umidade relativa do ar, foram mensuradas com o uso do aparelho de Termo-Higrômetro, como critérios de avaliação foi estabelecido temperatura ambiente de 20 a 35°C e a umidade do ar 41 a 75%. (Masmali et al., 2014; Oriá et al., 2017).

As análises das lâminas foram realizadas por meio de microscopia óptica de luz polarizada com a objetiva de 40x (microscópio binocular 1600x, Olen©). As amostras, por sua vez, foram fotografadas com uma câmera acoplada ao microscópio e classificadas pela técnica de Rolando (1984) foi mensurada em I a IV pelo formato de uma folha de samambaia para diferenciar as alterações no filme lacrimal. No padrão de Cristalização do tipo I, as estruturas se apresentam uniformes sem espaços entre as ramificações; no

tipo II, pequenos espaços são visualizados, mas as ramificações estão presentes; no tipo III, espaços são evidentes com ramificações pobres, e no tipo IV, o fenômeno da cristalização está ausente (Oriá et al., 2017) (Figura 1.).

Figura 1: Imagem da Cristalização da lágrima da esquerda para direita Tipo I, Tipo II, Tipo III, Tipo IV, segundo a escala de Rolando 1984, microscopia óptica e aumento de 40 x



Fonte – o próprio autor

Os padrões de cristalizações do tipo I e II são considerados animais saudáveis, sem ceratoconjuntivite seca, tipo III são animais que podem ter alguma doença sistêmica associada, ou seja, vírus da cinomose, doenças imunomediadas, doenças metabólicas sistêmicas (diabetes mellitus, hiperadrenocorticism, hipoadrenocorticism e hipotireoidismo), tipo IV são animais que já apresentam olho seco (Oriá et al., 2017; Silva et al., 2018; Smith et al., 2020; Giuliano, 2021).

Os valores obtidos dos exames oftálmicos, foram agrupados e analisados estatisticamente, para saber se os caracteres idade, sexo e estado reprodutivo, interferem no TCL para olho direito e olho esquerdo. A correlação foi realizada pelo teste V de Cramér, onde o valor mais próximo de 1 significa alta correlação. Ela é utilizada para correlacionar as variáveis categóricas. A correlação de Pearson foi utilizada para saber se as variáveis numéricas como umidade e temperatura interferem no TCL. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa computacional software R (Miot, H.A., 2018).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram avaliados 92 olhos sem sinais clínicos evidentes de CCS, desses 46 animais eram 23 fêmeas; 12 castradas, 11 não castradas e 23 machos; 11 castrados e 12 não castrados; distribuídos por grupos de faixa etária. No grupo AJ (animais jovens de 12 a 18 meses foram avaliados 7 cães), AD (cães adultos 19 meses a sete anos, foram avaliados 33 cães) e I (idosos, foram seis cães) conforme demonstra a Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição de cães da raça Shih Tzu participantes no experimento de acordo com a classificação por faixa etária, sexo e estado reprodutivo

AJ	Castrados	Não castrados	Total
Fêmea	1	3	4
Macho	2	1	3
AD			
Fêmea	10	8	18
Macho	6	9	15
I			
Fêmea	1		1
Macho	3	2	5
Total	23	23	46

Os dados coletados foram agrupados como numéricos para TS, TRFL, TCL, umidade, temperatura do ambiente, frequência cardíaca e respiratória, pressão arterial sistêmica, temperatura retal, e categóricos para olhos saudáveis, idade e sexo, estado reprodutivo e grau de cristalização. Os olhos saudáveis foram definidos na interpretação dos resultados TS e TRFL de cada animal, sendo classificados com sim (S) ou não (N) para ceratoconjuntivite seca. O sexo foi classificado como: fêmea – F ou macho – M. O estado reprodutivo foi denominado de castrados Sim ou Não, o tipo da Cristalização da lágrima com A, B, C e D em ordem crescente para valores de I a IV. Os dados foram tabelados conforme os grupos de olhos.

O Teste de Cristalização da Lágrima (TCL); permite a mensuração indireta da osmolaridade do FLPC e é considerado o melhor teste no diagnóstico da CCS (Oriá et al., 2017, Sussadee et al., 2021). Os resultados obtidos foram Tipo I em (28,26%, 26 olhos) e Tipo II em (22,82%, 21 olhos), tipo III em (29,35%, 27 olhos), tipo IV em (19,57%, 18 olhos), como demonstra a Tabela 2.

Tabela 2. Classificação da Cristalização da Lágrima, de acordo com Rolando, (1984), em 46 cães da raça Shih Tzu, de um a 13 anos, sem evidências clínicas de CCS, avaliados na Clínica Veterinária São Francisco em Santo Antônio da Platina – PR, de setembro a dezembro de 2023

Classificação da cristalização da lágrima	OD (%)	OE (%)	MÉDIA
Tipo I	14 (30,43%)	12 (26,09%)	26 (28,26%)
Tipo II	10 (21,73%)	11 (23,91%)	21 (22,82%)
Tipo III	13 (28,27%)	14 (30,43%)	27 (29,35%)
Tipo IV	9 (19,57%)	9 (19,57%)	18 (19,57%)
Total	46 (100%)	46 (100%)	92 (100%)

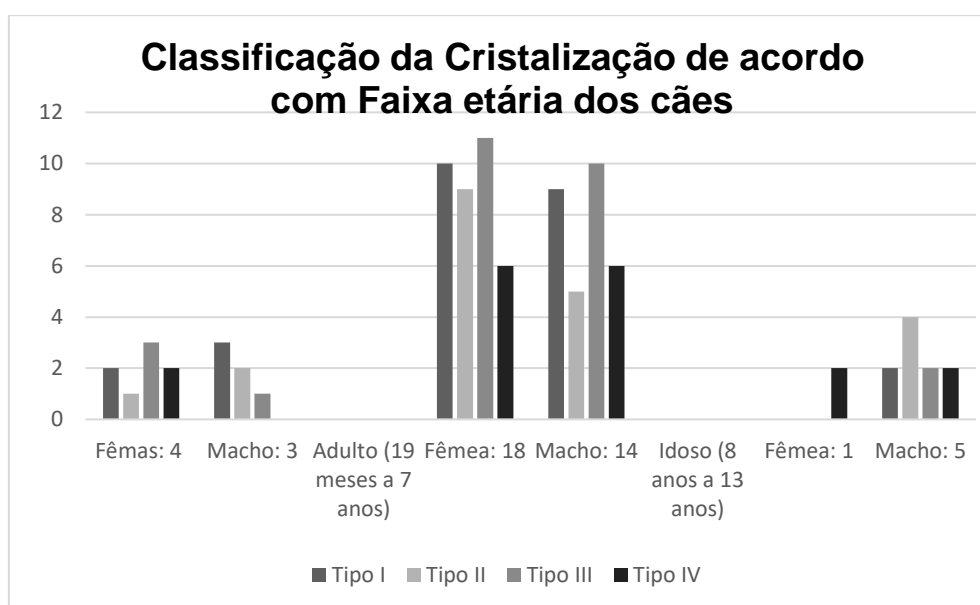
Legenda: Formato da samambaia Tipo I, estruturas uniformes sem espaços entre as ramificações; no tipo II, pequenos espaços entre as ramificações estão presentes; no tipo III, espaços evidentes com ramificações pobres e tipo IV, a cristalização está ausente

Sebbag et al. (2022), encontram em cães da raça Shih Tzu, por meio do padrão descrito por Masmali et al. (2014), obtiveram grau 0 em 1%, grau 1 em 35%, grau 2 em 57% e grau 3 em 7%. Dos 56 olhos que Vitor et al.(2024), avaliaram, 51,8% possuem grau 3 ou 4 na escala de Masmali, essa formação da cristalização acontece quando ao secar a gota de lágrima sobre a lâmina de vidro, com a evaporação da água, ocorre uma

concentração máxima de solutos no interior da gota e as proteínas e as mucinas são depositadas na margem. Devido a evaporação da água os solutos, sais minerais e eletrólitos, se unem a proteína e a mucina formando a cristalização. Esse processo pode não ocorrer na CCS por uma falha na proporção de sais minerais e proteínas. Ainda é incerto se o muco auxilia na cristalização ou se reduz a tensão da superfície lacrimal, portanto o processo da cristalização ainda não está esclarecido (Silva et al., 2015; Willians & Hewitt, 2017).

O padrão de cristalização tipo IV foi observado em todos os grupos de faixa etária dos cães mesmo não apresentando sintomas clínicos, como demonstra a figura 2.

Figura 2. Classificação da Cristalização da lágrima dos 92 olhos de cães da raça Shih Tzu, de acordo com a distribuição dos grupos de faixa etária, realizados no período de setembro a dezembro de 2023



Legenda: Adulto jovem: 4 fêmeas (tipo I, tipo II, tipo III e tipo IV) e 3 machos (tipo I, tipo II, tipo III); Adulto: 19 fêmeas (tipo I, tipo II, tipo III, tipo IV) e 14 machos (tipo I, tipo II, tipo III, tipo IV); Idoso 1 fêmea (tipo IV), 5 machos (tipo I, tipo II, tipo III, tipo IV)

Os Shih Tzu jovens podem apresentar algumas alterações palpebrais, resultando em um aumento da evaporação da camada aquosa, ao contrário de cães adultos e idosos que apresentam essa padronização por ocorrer um tempo maior no fechamento das pálpebras, portanto desenvolve o olho seco e outras enfermidades oculares por uma falha na disseminação do filme lacrimal (Sebbag et al., 2019; Vitor et al., 2024).

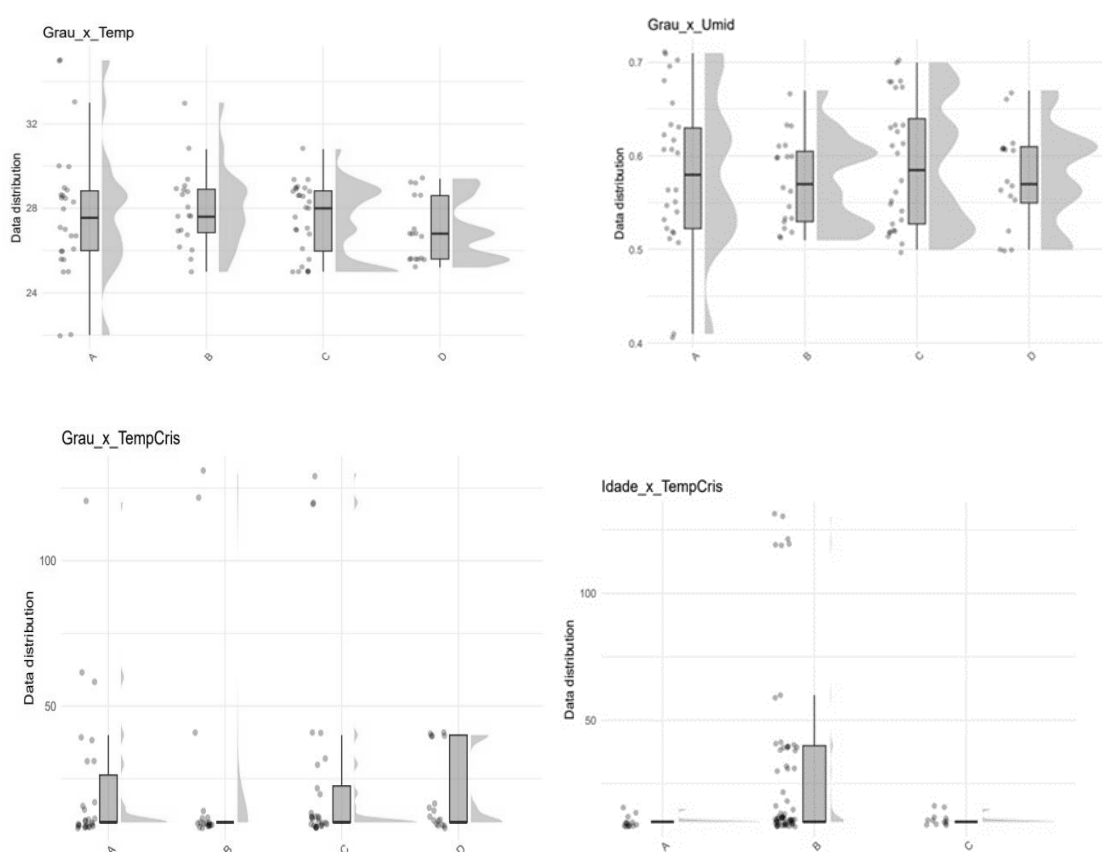
Dos animais que possui avaliações oculares com TS acima de 10 mm/min, TRFL acima 19 segundos, foram observados 31 olhos com padrões de cristalização tipo I ao IV, desses o TCL o tipo III foram encontrados em dois olhos direito (4,34%) e quatro olhos esquerdo (8,69%) e tipo IV em dois olhos esquerdos (4,34%). Cães com TS e TRFL normais podem apresentar padrões anormais na formação da cristalização, portanto essa técnica é utilizada para detectar a patologia preventivamente (Williams e Hewitt, 2017). Em humanos com TS dentro da normalidade, as classificações tipo I e tipo II são prevalentes quando não possuem alterações oculares, o tipo III menos frequente e o tipo IV para pacientes com olhos secos (Silva et al., 2015).

As diversas causas que podem desencadear a ceratoconjuntivite seca, como infecciosas, metabólicas, iatrogênicas, neoplasias, traumas, farmacológicas, imunomediadas, neurológicas (Smith et al., 2020) portanto, cães por apresentarem esse tipo de cristalização e foram assintomáticos na avaliação, ou ainda não apresentar sinais clínicos sistêmicos, foram suplementados com ômega 3, substitutos de lágrimas (alteração em TS) e imunossupressores (cristalização grau IV) e orientados a manter a avaliação oftálmica a cada 6 meses, como também avaliações anualmente.

As condições ambientais e o muco que está presente na superfície ocular, pode interferir na padronização da cristalização, tanto em cães como em equinos, o muco interfere até no tempo da secagem, por agregar ao centro da gota (Silva et al. 2015, Oriá

et al., 2017). Os animais que apresentaram essa ocorrência foram recoletados para comparar o tempo de cristalização, conforme demonstra a figura 3.

Figura 3. Histogramas das interferências como idade, tempo de cristalização, umidade relativa do ar e temperatura ambiente no Teste de Cristalização da lágrima, realizado pelo programa computacional software R



Legenda: Grau X Temp (tipo de cristalização X temperatura ambiente); Grau X Umidade (tipo de cristalização X umidade relativa do ar); Grau X Temp de Cristalização (tipo de cristalização X tempo para amostra da lágrima cristalizar na lâmina de vidro); Idade X Temp de Cristalização (idade dos animais agrupadas por A: adulto jovem, B: Adulto, C: idoso X tempo para amostra da lágrima cristalizar na lâmina de vidro).

Das 92 análises de cristalização, podemos observar que a temperatura ambiental foi

233 de 22°C a 35°C (média de 33°C \pm 5,82), umidade de 41% a 71% (média de 58,32% \pm 6,54)
234 e o tempo da cristalização de 10 minutos a 120 minutos (média de 23,04 min \pm 28,15).
235 Os trabalhos analisados preconiza tempo de 10 minutos, mas Vitor et al. (2024), em seu
236 trabalho com cães da raça Shih Tzu, observaram que o tempo médio de cristalização foi
237 de 18 minutos (IQR=15,0 -22,2 minutos) em temperatura de 20,1 a 26°C e umidade de
238 48% a 62%.

239 A umidade do ar de 41% a 65% com a temperatura de 25 a 30°C, faz com que a
240 cristalização aconteça dentro dos 10 minutos (Oriá et al., 2017). Com isso, observamos
241 que quanto maior a umidade relativa do ar, mais tempo leva para evaporar a camada
242 aquosa da lágrima, ou seja, quanto mais baixa a umidade relativa do ar, mais rápido ocorre
243 o processo de cristalização.

244 Dias frios e umidos, ou seja que umidade relativa do ar está aumentada nem toda
245 cristalização Tipo IV em 10 minutos é verdadeira para animais clinicamente estáveis (sem
246 sinais clínicos evidentes), pois algumas amostras podem demorar um tempo maior para
247 cristalizar, não apresentar sinais de olho seco, mas Oriá et al. (2017) discordam e relatam
248 que umidade acima de 50% e temperatura maior que 26°C; pode alterar a qualidade dos
249 padrões da cristalização, mas neste estudo observou todos os padrões de cristalização do
250 tipo I ao tipo IV dentro desses intervalos de temperatura e umidade para os cães avaliados
251 e observou padrões de cristalização tipo I, em cães há 71% de umidade, ocorrendo em
252 110 minutos com temperatura ambiente de 35°C.

253 O padrão tipo III teve maior incidência com 29,35% dos 92 olhos avaliados, mas
254 não foi considerado como doença ainda, porque os fatores endógenos e exógenos tem que
255 ser levado em consideração, portanto, os tutores foram orientados aos sinais clínicos, os
256 animais foram medicados com lubrificantes lacrimais e suplementação ômega 3, quando

possuía exposição ao ar condicionado, secadores e passeios de carros, seguidos de orientação de acompanhamento oftálmológico anualmente (Oriá et al., 2017).

A correlação de Pearson observou que temperatura e a umidade tem uma correlação de 0,46 e o p-valor de $\leq 0,00145$. Esses parâmetros interferem moderadamente sobre a cristalização da lágrima, devido a redução da pressão atmosférica, associado ao aumento da temperatura, faz com que ocorra a evaporação da porção aquosa, dando origem na lâmina os cristais presentes no filme lacrimal (Traipe-Castro et al., 2014).

Animais adulto, jovem e idosos foram os grupos que apresentaram a cristalização dentro dos 10 minutos. O grupo de animais adulto obteve a cristalização de 10 minutos na maioria das amostras, mas apresentou também cristalização no tempo de 25 a 120 minutos. Não há um consenso do tempo ideal de cristalização, o que aconselha é de sete a 10 minutos para humanos e 10 minutos para os equinos (Silva et al., 2015; Oriá et al., 2017) e cães 10 minutos (Oriá et al., 2017, Sebbag et al., 2023b). A idade resultou em uma moderada correlação no teste de cristalização para olho direito (V Cramér Correlation = 0,2315); como demonstra a Tabela 3.

Tabela 3. Valores da correlação das variáveis categóricas idade, sexo e estado reprodutivo com teste de cristalização da lágrima em olho direito e olho esquerdo em cães da raça Shih Tzu de um a 13 anos

TCL	Olho direito	Olho esquerdo
Idade	0,2315	0,1929
Sexo	0,1613	0,1819
Estado Reprodutivo	0,1661	0,2299

Legenda: Valores de referência para V de Cramér segundo IBM, 2024. $ES \leq 0,2$ muito fraco; $0,2 \leq ES \leq 0,6$ moderado, $ES \geq 0,6$ muito forte.

Cães adultos e idosos braquicefálicos apresentam um impacto negativo na homeostase da superfície ocular, por isso a prevenção de doenças de superfície ocular é recomendada, pois a cada ano que se passa aumenta as chances de desenvolver CCS e pigmentação corneana em 10% e doença de glândula de meibômio em 20% (Sebbag et al., 2022). Neste trabalho observou-se que a idade pode influenciar no TCL, mesmo que a amostragem por grupos não possua o mesmo número de animais, uma vez que foram utilizados animais sem sinais clínicos evidentes da rotina clínica.

O olho esquerdo, o estado reprodutivo, mostrou uma correlação moderada com TCL, com uma correlação de V de Cramér = “0,2299”. Em mulheres em período pós-menopausa, pode ocorrer alteração na cristalização da lágrima; nas que apresentam sinais de olho seco; devido a um aumento na osmolaridade do fluido lacrimal (Masmali et al., 2014). Em cães, os efeitos do estrogênio na glândula lacrimal é controverso, pois alguns estudos associaram a deficiência desse hormônio ao desenvolvimento de ceratoconjuntivite seca, mas há trabalhos que não mostram qualquer alteração do estrogênio sobre a glândula lacrimal ou o filme lacrimal (Giuliano, 2021), não há estudos em que o estado reprodutivo afeta a cristalização, por mais que a correlação estatística foi moderada, nesse estudo; na rotina clínica essa característica não é expressada ao observar a lâmina da cristalização da lágrima; portanto mais estudos se fazem necessários.

Os resultados estatísticos em V de Cramér, para olhos direito e esquerdo foram moderadamente baixos, explicando porque muitos estudos unificam os dados oculares para obter resultados estatísticos mais precisos. Neste estudo, a análise foi realizada separadamente para verificar possíveis diferenças entre os olhos, e foi encontrada pouca

discrepância, uma vez que se trata do mesmo animal. Portanto, concorda-se com Silva et al. (2015), que apontaram para diferenças individuais na composição da lágrima.

CONCLUSÃO

Os cães Shih Tzu podem apresentar o tipo IV em qualquer fase de idade independente do TS e TRFL estar dentro dos valores normais. A idade e o estado reprodutivo interferem moderadamente no tipo de cristalização.

A umidade e a temperatura, influenciam no tempo da cristalização uma vez que a correlação é moderada. A maioria das amostras de lágrimas cristalizam em 10 minutos, todavia as amostras que em 10 minutos acima de 65 % de umidade não cristalizam, é necessário esperar um tempo maior para considerar o resultado. É um teste que pode ser implantado na rotina clínica, desde que o animal deixe ser coletado uma amostra de lágrima, pois é de fácil execução, baixo valor econômico e com muita informação para o diagnóstico preventivo.

AGRADECIMENTO

Agradeço todos os cães e seus tutores que aceitaram participar do projeto como forma de prevenir a CCS, aos colegas veterinários e funcionários da Clínica Veterinária São Francisco que me auxiliaram nessa pesquisa e aos demais colaboradores da parte científica que me auxiliaram nas dúvidas para conseguir realizar essa escrita científica.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A.L. *Semiologia do Sistema Visual dos Animais Domésticos*. 4 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2022, 562p.
- DIETRICH, J.; SCHRADER, S.; Towards Lacrimal Gland Regeneration: Current Concepts and Experimental Approaches. *Current Eye Research*. p. 1-2, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02713683.2019.1637438>. Acesso em 25 set 2022.

- HENDRIX, D. V.H.; THOMASY, S.M.; GUM, G. G. *Physiology of the Eye*. 6ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2021, 126p.
- KOBASHIGAWA, K. K.; LIMA, T. B.; PADUA, I.R.M; BARROS, A. A. F., SOBRINHO; MARINHO, F.A.; ORTÊNCIO, M. K. P.& LAUS, J. L. Ophthalmic parameters in adult Shih Tzu dogs. *Ciência Rural*, v.45, n. 7, p.1280-1285, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141214>. Acesso em 29 jan. 2024.
- MADRUGA, G.M.; RIBEIRO, A.P.; MAGALHÃES, T.B.S.; RONDELLI, L.A.S.; FURLAN, F.H. Effect of 0.15% sodium hyaluronate and 0.5% carboxymethylcellulose on tear film breakup time in healthy dogs and in dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.70, n.5, p.1388-1396, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9733>. Acesso em: 29 set. 2022.
- MASMALI, A. M.; PURSLOW, C.; MURPHY, P.J. The tear ferning test: a simple clinical technique to evaluate the ocular tear film. *Clinical and Experimental Optometry*. *Clinical and experimental optometry*, v.97, p.399-406, 2014. Disponível: DOI:10.1111/cxo.12160. Acesso em 15 ago. 2022.
- MIOT, H. A. Análise de correlação em estudos clínicos e experimentais. *J Vasc Bras*, v.17, n.4, p.75-279, 2018. Disponível: <https://doi.org/10.1590/1677-5449.174118>. Acesso em: 11 abr. 2024.
- ORIÁ, A. P; RAPOSO, A.C.S.; ARAÚJO, N.L.L.C; LIMA, F. B.L; MASMALI, A. M. Tear ferning test in healthy dogs. *Veterinary Ophthalmology*, p.1–8, 2017. Disponível: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vop.12524>. Acesso em: 15 ago. 2022.
- SEBBAG, L.; SANCHEZ. R.F. The pandemic of ocular surface disease in brachycephalic dogs: The brachycephalic ocular syndrome. *Veterinary Ophthalmology*, v. 26, p.31-46, 2022. Disponível: DOI: 10.1111/vop.13054. Acesso em 29 jan. 2024.
- SEBBAG, L.; SILVA, A. P. S.M; SANTOS, A. P. B; RAPOSO, A. C. S.; ORIÁ, A. P. An eye on the Shih Tzu dog: Ophthalmic examination findings and ocular surface diagnostics. *Veterinary Ophthalmology*, v.26, p.59-71, 2023. DOI: 10.1111/vop.13022. Acesso em: 29 jan. 2024.
- SILVA, L.R., GOUVEIA, A.F., FÁTIMA, C, OLIVEIRA, L.B., REIS, Jr. J. L., FERREIRA, R. F., PIMENTEL, C.M.M.; GALERA, P. D. Tear ferning test in horses and its correlation with ocular surface evaluation. *Veterinary Ophthalmology*, v.19, n.2, p.117–123, 2016. Disponível: DOI:10.1111/vop.12268. Acesso em: 18 de jun, 2021.
- SMITH, S. M; HOLT, E.; AGUIRRE, G. D. Conjunctival staining with lissamine green as a predictor of tear film deficiency in dogs. *Veterinary Ophtalmology*, v. 00, p.1–8, 2020. Disponível: DOI: 10.1111/vop.12762. Acesso em: 15 ago, 2022.
- SUSSADEE, M.; RUCKSAKEN, R.; HAVANAPAN, P.; REAMTONG, O.; THAYANANUPHAT, A. Changes in tear protein profile in dogs with keratoconjunctivitis sicca following topical treatment using cyclosporine A. *Veterinary World*, v.14, n.6, p.1711-1717, 2021. Disponível: www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.1711-1717. Acesso em: 27 jul, 2022.

- TRAPE-CASTRO, L., SALINAS-TORO, D., LÓPEZ, D., ZANOLLI, M., SRUR, M., VALENZUELA, F., CÁCERES, A., TOLEDO-ARAYA, H.; LÓPEZ-SOLIS, R. Dynamics of tear fluid desiccation on a glass surface: a contribution to tear quality assessment. *Biological Research*, v.47, n.25, p.1-10, 2014. Disponível em: <http://www.biolres.com/content/47/1/25>. Acesso em: 04 abr. 2024.
- TSUBOTA, K.; YOKOI, N.; SHIMAZAKI, J.; WATANABE, H.; DOGRU, M.; YAMADA, M.; KINOSHITA, S.; KIM, H.; TCHAH, H.; HYON, J. Y.; YOON, K.; SEO, K. Y.; SUN, X.; CHEN, W.; LIANG, L.; LI, M.; LIU, Z. New Perspectives on Dry Eye Definition and Diagnosis: A Consensus Report by the Asia Dry Eye Society. *The Ocular Surface*, v. 15, n.1, p. 65-76, 2017. Disponível em: www.theocularsurface.com. Acesso em: 27 jan. 2024.
- VISSER, H. E.; TOFFLEMIRE, K.L.; LOVE-MYERS, K. R.; ALLBAUGH, R. A; ELLINWOOD, N. M.; DEES, D. D.; BEM-SHLOMO, G.; WHITHEY, R. D. Schirmer tear test I in dogs: results comparing placement in the ventral vs. dorsal conjunctival fornix. *Veterinary Ophthalmology*, p.1-4, 2017. Disponível: DOI:10.1111/vop.12462. Acesso em: 15 ago. 2022.
- VITOR, R. C; TEIXEIRA, J. B. C.; SANTOS, K. C.; OLIVEIRA, G. M. S.; GUEDES, P. E. B; SEVÁ, A. P.; GOMES, D. C. Jr.; VELOSO, J. F.; CARLOS, R. S. A. Shih-Tzu dogs show alterations in ocular surface homeostasis despite adequate aqueous tear production. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.66, n.3, p.1-7, 2024. Disponível: <https://doi.org/10.1186/s13028-024-00724-2>. Acesso em: 12 abr. 2024.
- WILLIAMS, D.; HEWITT, H. Tear ferning in normal dogs and dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Open Veterinary Journal*, v.7, n.3, p.268-272, 2017. Disponível: <http://dx.doi.org/10.4314/ovj.v7i3.11>. Acesso em: 19 ago. 2023.
- WILLIAMS, D. L. Optimising tear replacement rheology in canine keratoconjunctivitis sicc. *Eye*, v.32, p.195–199, 2018. Disponível: doi:10.1038/eye.2017.272. Acesso em: 26 jul. 2022.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ceratoconjuntivite seca é uma doença multifatorial que não possui cura, por isso o diagnóstico preventivo para melhor qualidade de vida dos cães braquicefálicos como os Shih Tzu se faz necessário, uma vez que os métodos de avaliações clínicas dessa patologia são de baixo valor econômico e fácil implantação na rotina clínica, embora o conhecimento teórico/prático para realização dessa prevenção é essencial.

Os Shih Tzu possuem tempo de ruptura do filme lacrimal menor, portanto podem apresentar deficiência qualitativa sem os sinais clínicos evidentes, sendo assim o teste de cristalização da lágrima é realizado para o diagnóstico preventivo, lembrando que a temperatura e a umidade do ar podem influenciar moderadamente sobre o tempo da cristalização. Todavia, a idade influencia no grau da cristalização, na produção e qualidade da lágrima devido as alterações fisiológicas e anatômicas que caracterizam esses caninos na síndrome ocular do braquicefálico, entretanto para o estado reprodutivo mais estudos são necessários para considerar a correlação moderada.

APÊNDICES

FICHA DE ATENDIMENTO

DATA DO ATENDIMENTO

INSTRUTOR

Alunos

NOME DO TUTOR

NOME DO ANIMAL

ID HOVET

IDADE

ID HOVET

ESPÉCIE

CANINA
FELINA

SEXO

MACHO
FEMEA

REPRODUÇÃO

CASTRADO
INTERO

RAÇA

PESO

ANAMNESE

EXAME OFTÁLMICO

1 - INSPEÇÃO DE ESTRUTURAS EXTRAOCULARES/AVALIAÇÃO DE SINTOMAS

2 - AVALIAÇÃO DA VISÃO

OD

OE

TESTE DE AMEAÇA		
TESTE DE MOVIMENTO		
TESTE DE OBSTÁCULOS	CLARO	ESCURO
REAÇÃO POSTURAL		
LASER POINT		

5 - TESTE DE FLUORESCÊNCIA

OD (+/-)	OE (+/-)
BUT:	BUT:
TESTE DE JONES (+/-)	TESTE DE JONES (+/-)
SEIDEL (+/-)	SEIDEL (+/-)

3 - TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER

OD OE mm/min

7 - OUTROS CORANTES

4 - AVALIAÇÃO NEUROFTÁLMICA

OD

OE

RPL	D	C	D	C
OPUSCAMENTO				
REFLEXO CORNEANO				
REFLEXO PALPEBRAL				
REFLEXO ÓCULO CEFÁLICO				

8 - TONOMETRIA

OD	OE	MMHG
TONOVET	TONOVET PLUS	OUTROS
TONOPEN	TONOPEN AVIA	

6 - INSPEÇÃO COM LÂMPADA DE FENDA

OLHO DIREITO:

OLHO ESQUERDO:

9 - FUNDOSCOPIA <div style="border: 1px solid black; height: 60px; margin-top: 5px;"></div>			
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> 10 - RETROILUMINAÇÃO <div style="border: 1px solid black; height: 40px; margin-top: 5px;"></div> </div> <div style="width: 45%;"> 11 - RETROPULSAÇÃO <div style="border: 1px solid black; height: 40px; margin-top: 5px;"></div> </div> </div>			
PROCEDIMENTOS ESPECIAIS: <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 5px;"> <input type="checkbox"/> ERG <input type="checkbox"/> US Ocular <input type="checkbox"/> UBM <input type="checkbox"/> Gonioscopia </div>	EXAMES COMPLEMENTARES SOLICITADOS <div style="border: 1px solid black; height: 60px; margin-top: 5px;"></div>	HORÁRIO DE INSTILAÇÃO COLÍRIOS <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 5px;"> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px;"></div> fluoresceína </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px;"></div> anestésico </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px;"></div> tropicamida </div> </div>	
EXAME FÍSICO <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-end;"> <div>Temp. <input style="width: 40px;" type="text"/> °C</div> <div>Freq. Resp. <input style="width: 40px;" type="text"/> mpm</div> <div>Freq. Cardíaca <input style="width: 40px;" type="text"/> bpm</div> <div>Postura <input style="width: 80px;" type="text"/></div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-end; margin-top: 5px;"> <div>Escore corporal <input style="width: 80px;" type="text"/></div> <div>Mucosa Oral <input style="width: 80px;" type="text"/></div> <div>Hidratação <input style="width: 80px;" type="text"/></div> </div>			
OBSERVAÇÕES SOBRE SITUAÇÃO CAVIDADE ORAL <div style="border: 1px solid black; height: 20px; margin-top: 5px;"></div>		<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: flex-start;"> <input type="checkbox"/> Linf. submandibulares <input type="checkbox"/> Linf. pré-escapulares <input type="checkbox"/> Linf. poplíteos <input type="checkbox"/> Linf. inguinais </div>	
DIAGNÓSTICO <div style="border: 1px solid black; height: 60px; margin-top: 5px;"></div>		AGENDAMENTOS <div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: flex-start; margin-top: 5px;"> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 5px;"> <input style="width: 60px; height: 20px;" type="text"/> DATA P/ ENVIO EXAMES </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 5px;"> <input style="width: 60px; height: 20px;" type="text"/> DATA DA CIRURGIA </div> <div style="display: flex; align-items: center;"> <input style="width: 60px; height: 20px;" type="text"/> DATA DO RETORNO </div> </div>	
CONDOTA <div style="border: 1px solid black; height: 100px; margin-top: 5px;"></div>			

Fonte: Curso Primeiros Passos em Oftalmologia – Anclivepa.