

ANA RITA CARVALHO PEREIRA

Diagnóstico e resposta terapêutica de colite crônica em buldogues franceses

São Paulo

2024

ANA RITA CARVALHO PEREIRA

Diagnóstico e resposta terapêutica de colite crônica em buldogues franceses

VERSÃO CORRIGIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Fábio Alves Teixeira

São Paulo

2024

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Catálogo na Publicação

Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo
Ficha catalográfica gerada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Pereira, Ana Rita Carvalho
Diagnóstico e resposta terapêutica de colite crônica em buldogues
franceses / Ana Rita Carvalho Pereira ; orientador Fábio Alves
Teixeira .-- São Paulo, 2024.
71 f. : il.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Clínica
Veterinária - Departamento de Clínica Médica) - Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2024.

1. Colite granulomatosa. 2. Enteropatias crônicas. 3. Cão. 4.
Diarreia crônica. I. Título.

Bibliotecária responsável pela estrutura de catalogação
na publicação: Maria Aparecida Laet - CRB 5673-8.



Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

São Paulo, 14 de outubro de 2022
CEUAx N 3186100222

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Fabio Alves Teixeira

Área: Clínica Médica Veterinária

Equipe envolvida: Ana Rita Carvalho Pereira - (executante);

Título do projeto: "Diagnóstico e resposta terapêutica de colite crônica em buldogues franceses".

Parecer Consubstanciado da CEUA FMVZ

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, na reunião de 27/07/2022, **ANALISOU** e **APROVOU** o protocolo de estudo acima referenciado. A partir desta data, é dever do pesquisador:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do protocolo.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do protocolo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.
4. **Relatórios parciais** de andamento deverão ser enviados **anualmente** à CEUA até a conclusão do protocolo.

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Camilla Mota Mendes
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: PEREIRA, Ana Rita Carvalho.

Título: **Diagnóstico e resposta terapêutica de colite crônica em buldogues franceses**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedico essa vitória, e todas as outras, ao meu pai, Raul de Santa Helena.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, a todo plano espiritual e ao meu mentor por terem me ajudado a chegar até aqui, e superado cada passo desse caminho.

Agradeço ao meu marido que nunca duvidou de mim, mesmo quando eu tantas vezes duvidei. Que aguentou dois anos de cansaço, aulas, sono, exaustão, nervosismo, e muito mais, e teve uma paciência incansável. Não tenho palavras para agradecer. Nunca teria conseguido sem seu suporte ao meu lado, fazendo tudo ser tão mais leve. Me fazendo rir quando eu só queria chorar. Te amo, para sempre.

À minha família, me deu suporte, e coragem para encarar esse mundo maluco. Minha mãe, que está todos os dias do meu lado, mesmo não fisicamente, mas isso nunca nos impediu de estarmos juntas. Esse mestrado também é para você. Agradeço também ao meu pai, que está no plano espiritual, mas que espero que possa ver aonde cheguei. Pelo menos por um momento, porque tudo que faço é por ele. Quando você se foi eu prometi que até eu te encontrar eu iria fazer tudo o que você sempre me ensinou, e tentaria te deixar orgulhoso. Isso é para você.

Ainda na família, agradeço ao meu padrinho, que é literalmente meu segundo pai, quando me faltou pai e até quando ainda tinha, porque nunca foi ausente. Eu te amo muito, dindo. Agradeço também ao meu avô, que também está no plano espiritual, mas também me trouxe até aqui, e me deu muito... A saudade será eterna.

Agradeço também ao meu irmão, que é um pedaço do meu coração fora do meu corpo. Brigada por entender exatamente o que eu sinto quando ninguém mais entende. Ju e Antonia, que fazem minha família tão completa ser tão feliz e perfeita. Obrigada por serem meu ponto de luz.

Agradeço ao meu orientador Fábio Teixeira, por todo suporte, por me ajudar e me ensinar a ser uma mestranda. Obrigada pela paciência, pelos ensinamentos, e por ter aceitado esse desafio. A Patrícia Ishii pela ajuda no projeto. Sempre serei grata. Obrigada. Agradeço também a Dra Paula Giaretta, e a todos do GILAB, que nos receberam muito bem e foram muito solícitos em nos auxiliarem. Agradeço a Camila Goloni pelo auxílio com as estatísticas, por ter aceitado esse desafio com tão pouco tempo.

Agradeço ao Ricardo Duarte, meu grande amigo, que me re-ensinou a ser veterinária, me devolveu paixão pela nossa profissão, e me ensinou essa especialidade que poucos sabiam na época que comecei. Você é um profissional sem igual. E eu tenho a honra de lhe ter próximo, como amigo, e como um modelo a seguir. Te amo de verdade, amigo.

E finalmente à minha irmã de alma, Mari, que sem ela nem sei como estaria em pé, não tenho nem palavras para agradecer, porque não existem palavras suficientemente boas para isso. Para aquela que me entende no silêncio e no excesso de palavras, obrigada, por tudo.

A imaginação é mais importante que o conhecimento.

Albert Einstein

RESUMO

PEREIRA, A.R.C. **Diagnóstico e resposta terapêutica de colite crônica em buldogues franceses.** [Diagnosis and therapeutic response of chronic colitis in French bulldogs]. 2024. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

A colite granulomatosa (CG), causada pela *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI), é importante causa de diarreia crônica em cães, e buldogues franceses (BF) estão entre as raças mais predispostas. Outras causas de diarreias crônicas são comuns na raça, mas não há estudos comparando-as. Para CG, recentemente a técnica de imunohistoquímica (IHQ) para ECEI, em biópsias de cólon mostrou-se eficaz como diagnóstico definitivo. O objetivo deste estudo é comparar os aspectos clínicos e histopatológicos dos BF com diarreia crônica. Foram selecionados os prontuários e os blocos de parafina de biópsias de cães BF, atendidos com diarreia crônica, em um serviço de gastroenterologia veterinária da cidade de São Paulo, no período de 2014 a 2022. Foram elaboradas novas lâminas para análise histológica, com coloração Hematoxilina e eosina (HE), ácido periódico de Schiff (PAS) e IHQ para *E. coli*, no Laboratório de Gastroenterologia da *Veterinary Medicine & Biomedical Sciences (Texas A&M University; Estados Unidos)*, e posteriormente avaliadas por uma patologista veterinária diplomada pelo *American College of Veterinary Pathologist*. BF foram classificados entre CG e não colite granulomatosa (CNG), sendo estas subdivididas em linfoplasmocítica (LP), neutrofílica e/ou eosinofílicas (NE) ou sem infiltrado inflamatório (NI). Os dados e características do quadro clínico foram elencados dos prontuários e comparados entre as classificações diagnósticas por meio de testes estatísticos. Dos 38 animais selecionados, quatro foram excluídos por má qualidade das biópsias. Foram considerados 34 cães para avaliações histopatológicas e 29 para avaliações clínicas, pois de cinco não houve acesso ao prontuário. A CG foi diagnosticada em 38,2% (13/34) dos cães, 61,8% (21/34) foram considerados CNG: 32,4% NE, 17,6% NI e 11,8% LP. Na comparação entre CG e CNG, não houve diferença entre idade média (1,3 vs. 2,8 anos, respectivamente; $p=0,20$) e distribuição sexual (76,9% machos x 76,2%, $p>0,99$). Todos os animais

receberam medicação prévia à biópsia, sendo mais frequente antibioticoterapia [79,3% (23/29)] e corticoterapia [48,0% (14/29)]. BF com CG apresentaram 20 vezes mais chance de apresentar diarreia diária que os CNG (Odds ratio 20,0; $p < 0,005$). Outras manifestações como muco e sangue nas defecações [96,5% (28/29)], prolapso de reto [7,0% (2/29)], dor e disquezia [79,0% (23/29)], perda de peso [24,14% (7/29)], aumento da frequência de defecação [86,0% (25/29)], urgência para defecar [76,0% (22/29)] e êmese [55,0% (16/29)]. Conclui-se que o Não é possível diferenciar CG de CNG somente por variáveis clínicas, mas diarreias de intestino grosso diárias podem ser sugestivas de CG em BF.

Palavras-chave: colite granulomatosa. enteropatias crônicas. cão. diarreia crônica.

ABSTRACT

PEREIRA, A.R.C **Diagnosis and therapeutic response of chronic colitis in french bulldogs**. 2024. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

Granulomatous colitis (GC) is caused by adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) (AIEC) and is an important cause of chronic diarrhea in French bulldogs (FB), one of the most predisposed breeds. Other causes of chronic diarrhea are common in the breed, but there are no studies comparing them. Recently the immunohistochemistry (IHC) proved to be effective as a definitive diagnosis for GC. The objective of this study is to compare the clinical and histopathological aspects of FB with chronic diarrhea. The medical records and paraffin blocks of biopsies from FB with chronic diarrhea attended in a veterinary gastroenterology service in the city of São Paulo, from 2014 to 2022, were selected. New slides were prepared for histological analysis, with hematoxylin and eosin (HE), periodic acid-Schiff (PAS) and IHC for *E. coli*, at the Gastroenterology Laboratory of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences (Texas A&M University; United States), and subsequently evaluated by a veterinary pathologist graduated from the American College of Veterinary Pathologist. Dogs were classified as GC and non-granulomatous colitis (CNG), them subdivided into lymphoplasmacytic (LP), neutrophilic and/or eosinophilic (NE) or without inflammatory infiltrate (NI). The data and characteristics of the clinical picture were listed from the medical records and compared between the diagnostic classifications using statistical tests. Of the 38 animals selected, four were excluded due to poor quality of the biopsies and five due to lack of medical records. 34 dogs were considered for histopathological evaluations and 29 for clinical evaluations. GC was diagnosed in 38.2% (13/34) of dogs, 61.8% (21/34) were considered CNG: 32.4% NE, 17.6% NI and 11.8% LP. When comparing CG and NGC, there was no difference between mean age (1.3 vs. 2.8 years, respectively; $p=0.20$) and sexual distribution (76.9% males x 76.2%, $p>0.99$). All animals received medication prior to biopsy, the most frequent being antibiotic therapy [79.3% (23/29)] and corticosteroid therapy [48.0% (14/29)]. FB with CG were 20 times more likely to have daily diarrhea than NGC (Odds ratio 20.0; $p<0.005$). Other manifestations such as mucus and blood in defecations [96.5% (28/29)], rectal

prolapse [7.0% (2/29)], pain and dyschezia [79.0% (23/29)], weight loss [24.14% (7/29)], increased frequency of defecation [86.0% (25/29)], urgency to defecate [76.0% (22/29)] and emesis [55.0% (16/29)]. It is concluded that it is not possible to differentiate CG from CNG solely by clinical variables, but daily large intestinal diarrhea may be suggestive of CG in FB.

Keywords: granulomatous colitis. chronic enteropathies. dog. chronic diarrhea.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Realização do realinhamento dos fragmentos de biópsia durante a reblocagem, com organização dos fragmentos por ordem de tamanho, e posicionamento de todos na mesma direção, com objetivo de facilitar o patologista no momento da leitura da lâmina histológica..... 36

Figura 2 – Comparativo dos blocos de parafina: lado esquerdo provindo do laboratório de origem, antes da reblocagem, com as amostras aglutinadas não sendo possível identificação individual dos fragmentos. Lado direito bloco de parafina no padrão do laboratório americano com as amostras individualizadas e direcionadas para facilitar a leitura da lâmina pelo patologista após corte e coloração..... 37

Figura 3 – Local de realização da coloração da coloração histológica de ácido periódico de schiff (PAS) no laboratório de gastroenterologia dos Estados Unidos: recipientes com corantes da coloração de PAS e locais de colocação das lâminas para realização da coloração, protocolo impresso, cronômetro e grade para secar as lâminas após a coloração.37

Figura 4: Distribuição da frequência da diarreia nos cães da raça buldogue francês, classificada entre diária (quando apresentada todos os dias) e intermitente (quando apresentada com frequência variável), de acordo com diagnóstico de colite granulomatosa ou não colite granulomatosa..... 45

Figura 5 - Cólon de um cão com colite granulomatosa associada a *E. coli corado com hematoxilina e eosina (HE)*. A lâmina própria contém numerosos macrófagos com citoplasma abundante. O epitélio superficial contém erosões. HE, 400X45

Figura 6 - Cólon de um cão com colite granulomatosa associada a *E. coli*. Em uma coloração com ácido periódico de Schiff (PAS), o citoplasma dos macrófagos na lâmina própria é magenta a roxo (PAS positivo, setas). PAS, 400X..... 46

Figura 7 - Cólon de um cão com colite granulomatosa associada a *E. coli* leve. A imunohistoquímica para *E. coli* mostrou raros bacilos intracitoplasmáticos em macrófagos imunomarcados em vermelho escuro (setas). IHQ, 400X..... 46

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Resultados dos histopatológicos realizados no Brasil com histopatológicos realizados nos Estados Unidos..... 47

QUADRO 2 - Média de idade dos animais e porcentagem de machos, fêmeas e alteração fecal dos animais, separados de acordo com seus diagnósticos finais, assim como valores finais de p, quando disponíveis.....50

QUADRO 3 - Informações dos cães da raça buldogue francês com diarreia crônica e caracterização das manifestações clínicas de acordo com o diagnóstico das biópsias intestinais.....51

QUADRO 4 - Dados de tratamento, desfecho e resultado de cultura de biopsia intestinal dos buldogues franceses de acordo com diagnóstico final..... 53

SUMÁRIO

1. Introdução	16
2. Revisão de literatura	17
2.1 Enteropatias crônicas	17
2.1.1 Diagnóstico das Enteropatias crônicas.....	18
2.1.1.1 Exclusão de causas extra trato gastrointestinal	18
2.1.1.2. Resposta ao tratamento	19
2.1.1.3. Avaliação histopatológica	20
2.1.1.4. Infiltrado celular: linfoplasmocítico	22
2.1.1.5. Infiltrado celular: eosinofílico	23
2.1.1.6. Infiltrado celular: granulomatoso	23
2.1.1.7. Técnicas de diagnóstico histológico	23
2.1.1.7.1. Hematoxilina e eosina (HE)	24
2.1.1.7.2. Coloração por ácido periódico de Schiff (PAS)	24
2.1.1.7.3. Hibridização por fluorescência in situ (FISH)	25
2.1.1.7.4. Imunohistoquímica (IHQ)	26
2.2. Colites	27
2.2.1. Colite imunomediada	28
2.2.2. Colite Granulomatosa	28
3. Objetivos	34
4. Material e métodos	34
5. Resultados	39
6. Discussão	55
7. Conclusões	64
8. Referências	65

1. INTRODUÇÃO

As enteropatias crônicas (EC) são a causa mais comum de manifestação clínica gastrointestinal persistente e recorrente em cães (ALLENSPACH *et al.*, 2007; FRITSCH *et al.*, 2022; MAKIELSKI *et al.*, 2019). Estas manifestações clínicas podem variar entre êmese, dor abdominal, hiporexia, perda de peso e diarreia, de maneira crônica, ou seja, por mais de 3 semanas (ALLENSPACH *et al.*, 2007; ALLENSPACH, 2015; ALLENSPACH; CULVERWELL; CHAN, 2016; DANDRIEUX, 2016).

Dentre as EC, as colites apresentam manifestações clínicas características marcantes, como diarreias crônicas com presença frequente de muco, disquezia, tenesmo, hematoquezia, borborigmos, aumento na frequência de defecação, dor e urgência para defecar (LEIB, 2000; LECOINDRE; GASCHEN, 2011). As colites crônicas em cão podem ser classificadas histologicamente, principalmente, como linfoplasmocíticas ou granulomatosas, estas últimas, mais frequentes encontradas em cães da raça boxer e buldogues franceses (LECOINDRE; GASCHEN, 2011; DANDRIEUX, 2016).

A colite granulomatosa (CG) foi primeiramente descrita em boxers em 1965 (VAN KRUININGEN *et al.*, 1965) e posteriormente em buldogues franceses (BF), os quais se demonstraram também predispostos a esta (INGRID VAN DER GAAG; JIK VAN TOORENBURG, 1978; TANAKA; NAKAYAMA; TAKASE, 2003; CONRADO *et al.*, 2022). É causada pela bactéria *Escherichia coli* entero-invasiva (ECEI), que tem capacidade de penetrar nos enterócitos, e ocasionar quadro clínico grave e com prognóstico reservado (VAN KRUININGEN *et al.*, 1965; INGRID VAN DER GAAG; JIK VAN TOORENBURG, 1978; FIX, 1982; PARKER *et al.*, 2017; TANAKA; NAKAYAMA; TAKASE, 2003).

Em buldogues franceses, até recentemente, o diagnóstico diferencial entre CGs e os demais quadros de diarreia crônica era realizado pela avaliação histopatológica de fragmentos de cólon, com realização de colorações específicas (ácido periódico de Schiff – PAS), no intuito de identificar macrófagos, característicos da CG, seguido de identificação da ECEI pela técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) (VAN KRUININGEN *et al.*, 1965; SIMPSON *et al.*, 2006).

No entanto, a técnica de FISH é cara, de difícil realização e limitada a laboratórios de referência nos Estados Unidos da América (EUA), e não está

disponível no Brasil (ISHII *et al.*, 2022). Em estudo recente, foi possível identificar a ECEI pela técnica de imuno-histoquímica (IHQ), com 100% de correlação com a técnica previamente utilizada de FISH, sendo esta a atual técnica referência de diagnóstico (ISHII *et al.*, 2022).

O tratamento preconizado para a CG é a antibioticoterapia prolongada, com antimicrobianos capazes de penetrar enterócitos e erradicar a ECEI (INGRID VAN DER GAAG; JIK VAN TOORENBURG, 1978; VAN KRUININGEN; CIVCO; CARTUN, 2005; SIMPSON *et al.*, 2006; LUCENA; NOVALES; GINEL, 2017; MERINO-GUTIERREZ; PUIG; FEO-BERNABE, 2022). Já o tratamento das outras colites visa imunossupressão, por meio de medicamentos como cortisona, ciclosporina e azatioprina, muitas vezes por toda vida do animal (DANDRIEUX, 2016; ALLENSPACH *et al.*, 2019).

Por ser uma raça com a possibilidade de ser acometida por afecções distintas com tratamentos opostos, o diagnóstico específico é de suma importância para planejamento e adequada instituição terapêutica. Não foram encontrados estudos que descrevam e comparem os quadros de diarreia crônica no buldogue francês, correlacionando os dados clínicos com o diagnóstico, e a resposta clínica ao tratamento instituído.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ENTEROPATIAS CRÔNICAS

O termo EC, anteriormente conhecido como ‘doença inflamatória intestinal’ (DII), é utilizado para designar a afecção na qual o cão apresenta manifestações clínicas gastrointestinais como vômito e diarreia, por mais de três semanas, após a exclusão de causas extra trato gastrointestinal (ALLENSPACH *et al.*, 2007, 2019; ALLENSPACH; CULVERWELL; CHAN, 2016; ALLENSPACH; MOCHEL, 2022; DANDRIEUX, 2016).

A nomenclatura DII foi utilizada por anos inspirada na medicina humana, porém em 2016, Dandrieux propõe a mudança para EC devido a diferenças no tratamento e no desfecho clínico observado em comparação a humanos, para os quais o termo

“DII” é mais comumente utilizado. Muitos cães com EC não irão necessitar de tratamento com imunossuppressores para o controle das manifestações clínicas, nem de cirurgias para ressecção de estenoses intestinais, como comumente é relatado em humanos com DII (DANDRIEUX, 2016).

A patogênese das EC ainda não é totalmente conhecida, mas parece ser multifatorial, e envolver resposta imunológica celular exacerbada aos antígenos da dieta ou aos microrganismos da microbiota intestinal, em indivíduos susceptíveis. Esses antígenos levam a proliferação de células T, que se infiltram na lâmina própria da mucosa, produzindo citocinas pró-inflamatórias, mesmo sem nenhum patógeno identificado, resultando no processo inflamatório identificado nos pacientes com EC (ALLENSPACH; MOCHEL, 2022).

Nas EC como um todo não há predisposição etária, porém, quando são separadas pela classificação de acordo com a resposta ao tratamento, observa-se c mais jovens acometidos com as EC responsivas a dieta e animais de meia idade a idosos acometidos pelas EC responsivas a imunossupressão (ALLENSPACH *et al.*, 2007). Raças de pequeno porte também parecem ser mais acometidas pelas EC como um todo, principalmente os yorkshires terriers, west highlands white terriers e os dachshunds (ALLENSPACH *et al.*, 2007). Já os BF podem ser acometidos tanto pela CG quanto pelas demais formas de colite (VAN KRUININGEN *et al.*, 1965; VAN KRUININGEN; CIVCO; CARTUN, 2005; LUCENA; NOVALES; GINEL, 2017; MERINO-GUTIERREZ; PUIG; FEO-BERNABE, 2022;). No entanto, não há na literatura dados sobre a incidência da CG e da EC na população de buldogues franceses, suas diferenças clínicas e comparativo diagnóstico

2.1.1. DIAGNÓSTICO DAS EC

2.1.1.1. Exclusão de causas extra trato gastrointestinal

O diagnóstico das EC deve ser sistemático e por exclusão, pois suas manifestações clínicas são inespecíficas. Ou seja, as EC são diagnosticadas somente após a exclusão de todos os diagnósticos diferenciais prováveis para as manifestações clínicas apresentadas. É necessário descartar doenças metabólicas, como as hepáticas, pancreáticas e renais; endócrinas (principalmente

hipoadrenocorticismo) (GALLEGO; GOW; BOAG, 2022); infecciosas; parasitárias e as neoplasias. Para isso, é recomendado a realização de hemograma, mensuração da concentração sérica de marcadores específicos a tais situações como creatinina, albumina; atividade sérica de enzimas como fosfatase alcalina e alanina aminotransferase; coproparasitológicos seriados e ultrassonografia abdominal (ALLENSPACH *et al.*, 2007a, 2019; ALLENSPACH; CULVERWELL; CHAN, 2016; ALLENSPACH; MOCHEL, 2022; DANDRIEUX, 2016).

O hipoadrenocorticismo é descrito na literatura como um importante diagnóstico diferencial a ser excluído em pacientes com êmese e/ou diarreia crônicas. No entanto, a prevalência desta doença é de 0,3 a 4% em cães com manifestações gastrointestinais (HAUCK *et al.*, 2020; GALLEGO; GOW; BOAG, 2022).

2.1.1.2. Resposta ao tratamento

Após descartadas as doenças extra trato gastrointestinal, se estáveis, os pacientes devem ser submetidos a dieta de eliminação para exclusão de hipersensibilidade alimentar. Cães que obtém melhora das manifestações clínicas após dieta de eliminação por, no mínimo, 15 dias, são classificados como enteropatia responsiva à dieta (ERD) (VERLINDEN *et al.*, 2006; MANDIGERS *et al.*, 2010; DANDRIEUX, 2016; KAWANO *et al.*, 2016; VOLKMANN *et al.*, 2017). Esses pacientes tendem a ser mais jovens, ter manifestações clínicas menos graves e relacionadas ao intestino grosso, quando comparadas aos pacientes com as demais EC (ALLENSPACH *et al.*, 2007; ALLENSPACH; CULVERWELL; CHAN, 2016). A ERD é a EC mais frequente nos cães, descrita entre 57 a 66% dos casos de EC, tornando de suma importância a triagem alimentar em todos os pacientes com manifestações de EC (KAWANO *et al.*, 2016; VOLKMANN *et al.*, 2017; PEREIRA, 2022).

Sendo assim, a dieta hipoalergênica é a primeira linha de diagnóstico e tratamento das EC, e pode ser realizada com proteína inédita ou proteína hidrolisada (ALLENSPACH *et al.*, 2007; MANDIGERS *et al.*, 2010). Dietas com proteínas hidrolisadas visam reduzir a reação antigênica por reduzir o tamanho das proteínas até partículas pequenas o bastante a ponto de não serem reconhecidas como antígenos pelo sistema imune (MANDIGERS *et al.*, 2010).

Os cães que não apresentam resposta terapêutica a dieta hipoalergênica são submetidos a biópsia e, havendo infiltrado celular inflamatório, são posteriormente tratados com imunossupressores. Os pacientes que obtêm resposta favorável a corticoterapia ou imunossupressores são classificados como enteropatia responsiva a esteroides (ERE) ou enteropatia responsiva a imunossupressores (ALLENSPACH, 2011, 2015; ALLENSPACH et al., 2007; MICHAEL D. WILLARD et al., 2002; ALLENSPACH; CULVERWELL; CHAN, 2016; DANDRIEUX, 2016). Estes tendem a ser mais velhos, de meia idade a idosos, e apresentam manifestações clínicas mais graves, predominantemente de intestino delgado, e têm maior taxa de indicação de eutanásia pela doença intratável (ALLENSPACH et al., 2007).

Alguns estudos sugerem que a ERE pode ser iniciada como uma ERD (HALL EJ; GERMAN AJ., 2009). No entanto, mais estudos são necessários para avaliar se é uma progressão da doença ou enteropatias distintas.

Anteriormente, a classificação das EC incluía a enteropatia responsiva a antibióticos (ERA), quando os cães apresentavam melhora após antibioticoterapia (DANDRIEUX, 2016). No entanto, esta classificação está em desuso, pois antibióticos têm sido contraindicados para tratamento de EC por resultarem em disbiose (SUCHODOLSKI, 2022). Ainda são consideradas as enteropatias não responsivas (ENR), quando paciente não apresenta nenhuma resposta terapêutica a esteroides, antibióticos, imunomoduladores ou dieta; e a enteropatia associada a perda proteica (EPP), quando há perda de proteína para o lúmen intestinal (DANDRIEUX, 2016; DANDRIEUX; MANSFIELD, 2019).

2.1.1.3. Avaliação histopatológica

A avaliação histopatológica intestinal dos cães com EC frequentemente faz parte do diagnóstico (JERGENS et al., 2014), principalmente nos pacientes que não obtêm resposta terapêutica positiva à dieta hipoalergênica (ALLENSPACH et al., 2019). No entanto, na avaliação histopatológica não é possível segmentar as diferentes enteropatias em ERD, ERE ou ENR, pois esta é uma classificação baseada na resposta ao tratamento instituído e não pelo tipo de infiltrado celular (DANDRIEUX; MANSFIELD, 2019; ALLENSPACH et al., 2019).

A avaliação histopatológica é realizada de fragmentos do trato gastrointestinal acometido, podendo incluir estômago, duodeno, jejuno, íleo e cólon, e ser realizada de biópsias coletadas por endoscopia e colonoscopia, vídeo-laparotomia ou por laparotomia (WASHABAU et al., 2010; ALLENSPACH et al., 2007a, 2019; ALLENSPACH & MOCHEL, 2022).

A avaliação histopatológica tem como intuito descartar processos neoplásicos e fúngicos, diferenciar tecidos normais de tecidos inflamados, avaliar a arquitetura celular e caracterizar a origem e gravidade da alteração tecidual, auxiliando no diagnóstico morfológico, etiológico e conseqüentemente no prognóstico do paciente (WASHABAU et al., 2010; ALLENSPACH et al., 2019).

Caracterizar a gravidade e a extensão da inflamação em biópsias endoscópicas de cães é difícil, assim como ter um consenso entre os patologistas. Para isso, em 2010 foi publicado, pela WSAVA (*“World Small Animal Veterinary Association”*), o consenso de padronização da avaliação histológica de biópsias por endoscopia e colonoscopia (WASHABAU et al., 2010). Além de definir o que é considerado tecido saudável e tecido inflamado e como classificá-los, este consenso também determina número mínimo de fragmentos a serem coletados em biópsias endoscópicas e como armazená-las da melhor forma para que a avaliação histopatológica não seja prejudicada.

Nas avaliações dos infiltrados celulares, nas amostras do cólon, são considerados normais, pelo consenso, de $7,7 \pm 3,7$ linfócitos intra-epiteliais por área de 100 colonócitos na cripta do epitélio basal do cão, observados na objetiva de 40x do microscópio. Na lâmina própria, entre as criptas basais do cólon saudável, há aproximadamente $5,5 \pm 4,3$ plasmócitos e $3,8 \pm 3,7$ eosinófilos por $10.000 \mu\text{m}^2$. Se o número de células estiver acima do respectivo valor, é considerado tecido inflamado. A inflamação deve ser classificada em discreta, moderada ou grave. Também há dados quanto ao número de células caliciformes na cripta do epitélio colônico canino, sendo considerado normal $25,6 \pm 7,3$ por 100 colonócitos. Este número pode estar alterado de acordo com quantidade de muco liberado durante a coleta da biópsia (WASHABAU et al., 2010).

No entanto, diversos estudos evidenciam que há grande dificuldade de correlacionar os achados histopatológicos com a gravidade clínica da doença e a resposta terapêutica do paciente (LOIS ROTH et al., 1990; MICHAEL D. WILLARD et

al., 2002; ALLENSPACH et al., 2007; JERGENS et al., 2014; DANDRIEUX; MANSFIELD, 2019; ALLENSPACH et al., 2019;). Assim, recentemente foi evidenciado que há correlação maior da gravidade clínica com a arquitetura da mucosa do que com o número de linfócitos e plasmócitos em si. Assim, novos métodos de avaliação e graduação histológica simplificada têm sido propostos (JERGENS et al., 2014; ALLENSPACH et al., 2019).

A inflamação comumente encontrada nas avaliações histológicas do cólon dos cães com EC é a linfoplasmocítica, por vezes associada a eosinofílica (ALLENSPACH, 2015; ALLENSPACH; MOCHEL, 2022). Mas outros infiltrados também são comumente encontrados, como neutrofílico, piogranulomatoso, e granulomatoso ou histiocítico (WASHABAU et al., 2010; ALLENSPACH et al., 2019).

No entanto, além da avaliação histológica, as decisões terapêuticas devem se basear no histórico clínico, anamnese, avaliações laboratoriais e parâmetros clínicos, que podem ser determinados por índices como o índice clínico de atividade da enteropatia crônica em cão (CCECAI; “*canine chronic enteropathy clinical activity index*”), que vai auxiliar na avaliação inicial e no acompanhamento da resposta terapêutica do paciente (ALLENSPACH et al., 2007).

2.1.1.4. Infiltrado celular: linfoplasmocítico (LP)

É o infiltrado celular mais frequentemente relatado, principalmente no cólon, na qual são contabilizados maior quantidade de linfócitos e plasmócitos na mucosa e lâmina própria intestinal, além de avaliada presença de edema e fibrose, separando a cripta da muscular da mucosa e entre uma cripta e outra (ALLENSPACH *et al.*, 2019; DANDRIEUX, 2016).

A gravidade da colite LP é frequentemente classificada como discreta, moderada ou grave, de acordo com a quantidade de linfócitos e plasmócitos encontrados na mucosa e submucosa (WASHABAU *et al.*, 2010). No entanto, a gravidade da inflamação da mucosa pode não estar correlacionada com a gravidade do quadro clínico da EC. Por isso, outros parâmetros histológicos devem ser avaliados além do número de linfócitos e plasmócitos, como fibrose da mucosa, dilatação de criptas e alterações estruturais das vilosidades, para que se possa graduar

corretamente a gravidade da lesão e o veterinário possa correlacionar com a gravidade esperada do quadro clínico do paciente (ALLENSPACH *et al.*, 2019).

2.1.1.5. Infiltrado celular: eosinofílico

A classificação histológica da colite eosinofílica é realizada se os eosinófilos são encontrados em grande quantidade na mucosa dos cães (acima de $3,8 \pm 3,7$ eosinófilos por $10.000 \mu\text{m}^2$) ou se forem o padrão celular predominante (WASHABAU *et al.*, 2010). Apesar de na rotina clínica suspeitar-se que pacientes com infiltrado eosinofílico apresentam hipersensibilidade alimentar ou parasitas gastrointestinais, como citado anteriormente, a característica celular do infiltrado não determina o diagnóstico do paciente, sendo necessário avaliar a resposta terapêutica para determinar a classificação diagnóstica final, ou seja, o mesmo precisa responder a dietas hipoalergênicas para ser classificado como paciente com enteropatia responsiva a dieta (ALLENSPACH *et al.*, 2019; ALLENSPACH; MOCHEL, 2022).

2.1.1.6. Infiltrado celular: colite granulomatosa

Neste caso, a inflamação do cólon é marcada predominantemente pela presença de macrófagos com a ECEI. É uma lesão crônica e progressiva, transmural, caracterizada inicialmente por erosão e ulceração superficial da mucosa do cólon e pelo acúmulo de macrófagos positivos para coloração PAS no epitélio, lâmina própria e submucosa, entre a muscular da mucosa e a base das criptas do cólon. Apesar de os macrófagos PAS positivos serem altamente sugestivo de CG em raças predispostas, são indicados testes complementares nas amostras histológicas para confirmação diagnóstica, como FISH e imuno-histoquímica (CONRADO *et al.*, 2022; CRAVEN; MANSFIELD; SIMPSON, 2011a; ISHII *et al.*, 2022; VAN KRUININGEN, 1975).

2.1.1.7. Técnicas de diagnóstico:

2.1.1.7.1. Hematoxilina e eosina (HE)

A coloração por hematoxilina e eosina (HE) é a utilizada na maioria das avaliações histopatológicas do trato gastrointestinal. É uma coloração simples e de baixo custo. Por esta técnica pode-se diferenciar estruturas basófilas, que se coram com a hematoxilina, de estruturas acidófilas, que se coram pela eosina. Para iniciar a coloração o primeiro passo é a deparafinização para remoção da cera de parafina das lâminas histológicas. O xileno e seus substitutos são usados para remover a parafina. A solução de hematoxilina cora, por exemplo, os núcleos de cromatina, os ácidos nucleicos, e os retículo endoplasmático rugosos. Em seguida, a hematoxilina não corada é removida pela lavagem da lâmina. Por fim, a coloração de eosina é adicionada para corar o citoplasma das células, as fibras de colágeno e outras estruturas acidófilas (FELDMAN; WOLFE, 2014).

2.1.1.7.2. Coloração pelo ácido periódico de Schiff (PAS)

A PAS cora o componente de carboidrato dos macrófagos e da parede celular das bactérias, composta por glicoproteínas, tornando aqueles macrófagos de citoplasma granular e espumosos, com coloração rosa característicos na microscopia (KHAVARI et al., 1991; NOLTE et al., 2017; GIARDINO et al., 2023). No entanto, por esta coloração, não é possível identificar a bactéria ou agente infeccioso, ou se esta bactéria é gram positiva ou negativa (GIARDINO *et al.*, 2023).

Os grânulos citoplasmáticos visualizados na coloração rosa são atribuídos a própria fagocitose de microrganismos, os quais podem ser bactérias ou fungos, que também apresentam glicoproteínas em sua composição (KHAVARI et al., 1991; NOLTE et al., 2017; GIARDINO et al., 2023) Nestes pacientes, é característica a presença dos macrófagos PAS positivo na mucosa do cólon, o que é sugestivo da CG (VAN KRUININGEN et al., 1965; VAN KRUININGEN, 1975; LOIS ROTH et al., 1990; MANSFIELD; SIMPSON, 2011a; ALLENSPACH, 2015; ALLENSPACH et al., 2019; CRAVEN; SALAVATI SCHMITZ et al., 2019; ALLENSPACH; MOCHEL, 2022; CONRADO et al., 2022).

Em humanos, a coloração de PAS é utilizada para diagnóstico da doença de

Whipple (AFSHAR; REDFIELD; HIGGINBOTTOM, 2010; BOUMAZA *et al.*, 2022; KUTLU *et al.*, 2020; MARTH *et al.*, 2016), à qual a CG era comparada quando foi inicialmente descoberta em 1965 (VAN KRUIJNINGEN *et al.*, 1965). No entanto, somente a coloração de PAS positivo não é suficiente para o diagnóstico da doença de Whipple, pois outras bactérias podem levar ao mesmo resultado, levando a um falso positivo. O diagnóstico final é realizado por PCR de tecido intestinal, associado as manifestações clínicas e resposta ao tratamento (DOLMANS *et al.*, 2017).

Em cães, em outros processos infecciosos poderiam ser detectados macrófagos PAS-positivos, como infecções fúngicas, como candidíase e pitiose, e em lesões de cripta ligadas a enteropatias associadas a perda proteica (BERRYESSA *et al.*, 2008; PARAMBETH *et al.*, 2019; RECAÍ TUNCA *et al.*, 2006; WILLARD *et al.*, 2000). No entanto, nestas últimas, espera-se que os pacientes apresentem panhipoproteinemia em avaliações laboratoriais (WILLARD *et al.*, 2000). Nas pitioses, além do histopatológico e coloração de PAS, é necessário para o diagnóstico final a IHQ e PCR (BERRYESSA *et al.*, 2008; PARAMBETH *et al.*, 2019).

2.1.1.7.3. Hibridação fluorescente *in situ* (FISH)

A técnica de hibridização por fluorescência *in situ*, ou FISH, é uma técnica molecular utilizada para detectar uma sequência específica de DNA ou RNA com microscópio de fluorescência. É uma reação entre a probe fluorescente marcada que hibridiza com a sequência de DNA ou RNA alvo. Esta técnica pode ser utilizada para detectar sequências de nucleotídeos em diversas amostras, preservando a integridade celular da mesma (PRUDENT; RAOULT, 2019).

FISH é uma técnica que possibilita a visualização simultânea, identificação, enumeração e localização de microrganismos-alvo, como bactérias, arqueia, leveduras e protozoários.

O procedimento inclui quatro etapas: a fixação de microrganismos, esfregaços ou espécimes de tecidos; o pré-tratamento e permeabilização da amostra, permitindo o acesso de probes para os ácidos nucleicos; hibridização das sondas marcadas com seus alvos de DNA ou RNA; lavagem para remover sondas não ligadas, montagem e visualização em microscopia ou citometria de fluxo (PRUDENT; RAOULT, 2019).

Ela foi considerada o padrão para diagnóstico da CG desde 2006, pois por meio

desta técnica foi possível detectar a ECEI intramucosa ou intracelular em tecidos de cólon ou íleo nos pacientes caninos com suspeita de CG (SIMPSON *et al.*, 2006). Porém, a realização da técnica de FISH exige equipamento específico e reagentes caros, não estando disponível no Brasil para rotina da medicina veterinária, além de profissionais treinados e disponíveis imediatamente para leitura do resultado, impossibilitando a realização da técnica até mesmo em países onde é acessível (ISHII *et al.*, 2022).

2.1.1.7.4. Imuno-histoquímica (IHQ)

A IHQ é um método diagnóstico auxiliar amplamente utilizado na medicina veterinária e humana para diferenciar e classificar tipos celulares, sendo muito utilizada na oncologia. Esta técnica diagnóstica utiliza anticorpos marcados contra antígenos, em tecidos e células específicas. Ela pode ser realizada em tecidos fixados em formalina e parafina, mas também em tecidos congelados (MAGAKI *et al.*, 2019).

As etapas sequenciais da IHQ podem ser resumidas da seguinte forma: recuperação do antígeno, adição do anticorpo primário, aplicação de um anticorpo secundário que se liga ao anticorpo primário e adição de um reagente de detecção para localizar o anticorpo primário (MAGAKI *et al.*, 2019).

A IHQ é comumente utilizada no diagnóstico de neoplasias, porém, com a comprovação da capacidade da detecção da ECEI, maior facilidade e menor custo da técnica em comparação ao método padrão FISH, a mesma pode ser considerada uma técnica alternativa importante para diagnóstico da CG em cães (ISHII *et al.*, 2022).

2.2. COLITES

As colites apresentam manifestações clínicas características marcantes, como diarreias com presença frequente de muco, disquezia, tenesmo, hematoquezia, borborigmos, aumento frequência de defecação, dor e urgência para defecar (LEIB, 2000; LECOINDRE; GASCHEN, 2011).

Em humanos, a causa de diarreia crônica de intestino grosso mais comum é idiopática ou síndrome do intestino irritável (SIR), na qual o paciente apresenta dor

abdominal e diarreia crônica, sem alteração histopatológica ou em exames laboratoriais sanguíneos (SAHA, 2014; ALAMMAR; STEIN, 2019). A patogênese da SIR ainda não é completamente conhecida, mas possivelmente envolve disfunção no eixo cérebro-intestino, com fatores ambientais, estresse, depressão, ansiedade, alterações na dieta, além de mudanças na microbiota do trato gastrointestinal (SAHA, 2014; ALAMMAR; STEIN, 2019).

Em cães, a SIR não é comprovada, mas a diarreia idiopática de intestino grosso, sem lesão histológica presente na avaliação patológica já foi proposta por alguns autores (LEIB, 2000; LECOINDRE; GASCHEN, 2011; ALVES; JORGE; SANTOS, 2022). Porém, a SIR em humanos é diretamente ligada a fatores emocionais de difícil mensuração em cães, e a ausência de correlação entre os achados histopatológicos e a gravidade das manifestações clínicas já foi descrita previamente (LOIS ROTH *et al.*, 1990; WILLARD *et al.*, 2002), sendo inclusive proposto por Allenspach *et al.* (2019) novas formas de avaliação histológica das amostras coletadas para melhor elucidação das colites em cães.

2.2.1. COLITE IMUNOMEDIADA

Nesse material, as colites não granulomatosas serão chamadas de 'colites imunomediadas'. Estas são as colites mais comuns histologicamente, mas pouco descritas como doenças isoladas das demais EC na literatura da medicina veterinária, tendo poucas pesquisas relativas a elas (LEIB, 2000; ALLENSPACH *et al.*, 2007, LECOINDRE; GASCHEN, 2011; 2019; ROSSI *et al.*, 2020; ALVES; JORGE; SANTOS, 2022; FRITSCH *et al.*, 2022).

Após biópsia, aos cães que apresentam alteração histológica compatível com inflamação é necessário tratamento para controle e modulação do processo inflamatório, que visa controle das manifestações clínicas e qualidade de vida (ALLENSPACH *et al.*, 2007; ALLENSPACH; CULVERWELL; CHAN, 2016; FRITSCH *et al.*, 2022). O tratamento adequado das enteropatias imunomediadas em cães é controverso, e apresenta grande variabilidade entre os pacientes estudados, muitas vezes independente da avaliação histológica de biópsias coletadas. Os tratamentos propostos envolvem uma série de fatores como dietas coadjuvantes e medicamentos

imunossupressores (MAKIELSKI *et al.*, 2019).

A prednisolona é a cortisona mais utilizada para tratamento das enteropatias responsivas a esteróides, no entanto, usualmente é utilizada associada a outros imunossupressores, com menos efeitos colaterais, para que seja possível a manutenção de menor dose ou até mesmo suspensão do corticoide (ALLENSPACH *et al.*, 2007; ALLENSPACH, 2015; ALLENSPACH; CULVERWELL; CHAN, 2016; DANDRIEUX, 2016; MAKIELSKI *et al.*, 2019). Os imunossupressores mais utilizados são a ciclosporina, a azatioprina, o clorambucil e a budesonida (JULIEN R. S. DANDRIEUX *et al.*, 2013; DANDRIEUX, 2016b; MAKIELSKI *et al.*, 2019).

Não há na literatura, até o momento, descrição do prognóstico específico das colites imunomediadas em cão.

2.2.2. COLITE GRANULOMATOSA

A CG, previamente conhecida como ulcerativa ou histiocítica devido às suas características macroscópicas e histológicas, foi primeiramente descrita em um relato de nove cães filhotes da raça boxer (VAN KRUININGEN *et al.*, 1965) que manifestaram quadro clássico de colite, com diarreia com muco, disquezia, tenesmo e hematoquezia, porém com manifestações diárias, diferente do quadro clássico intermitente das colites, além de pouco a nenhuma resposta aos diversos tratamentos realizados, com mudanças dietéticas, corticoterapia, vermifugação e antibioticoterapia. À época, Van Kruiningen *et al.* (1965) compararam a doença dos boxers à doença de Whipple em humanos, pois tinham a mesma manifestação clínica e achados histopatológicos semelhantes: macrófagos positivos em histopatológico corado por PAS.

No entanto, a doença de Whipple é multissistêmica, e causada por uma bactéria que afeta o intestino delgado, a *Tropheryma whipplei* (AFSHAR; REDFIELD; HIGGINBOTTOM, 2010), diferente do que parecia acometer os boxers de Van Kruiningen (1965) que apresentavam as lesões histopatológicas exclusivamente no cólon. A infecção da doença de Whipple ocorre usualmente por ingestão da bactéria que, no duodeno e jejuno, se replica e gera manifestações clínicas como diarreia, fezes líquidas, dor abdominal, perda de peso, caquexia, febre e, em casos raros,

alterações neurológicas e poliartrite (AFSHAR; REDFIELD; HIGGINBOTTOM, 2010). Casos ainda mais graves podem levar a hipoalbuminemia, edema de membros e ascite (VAN KRUININGEN et al., 1965; AFSHAR; REDFIELD; HIGGINBOTTOM, 2010; MARTH et al., 2016; KUTLU et al., 2020; BOUMAZA et al., 2022;).

O diagnóstico da doença de Whipple é realizado por histopatológico de biópsias de duodeno e jejuno, usualmente por endoscopia, com macrófagos PAS positivos (AFSHAR; REDFIELD; HIGGINBOTTOM, 2010; MARTH et al., 2016; KUTLU et al., 2020; BOUMAZA et al., 2022). Após avaliação histológica é confirmado diagnóstico por reação em cadeia da polimerase (PCR; *polymerase chain reaction*) para *T. whipplei*, pois a coloração de PAS é inespecífica, podendo ser positiva a outros microrganismos como *Mycobacterium avium*, *Bacillus cereus*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus sp* e fungos (AFSHAR; REDFIELD; HIGGINBOTTOM, 2010; BOUMAZA et al., 2022; MARTH et al., 2016). Portanto, apesar da semelhança histológica de macrófagos PAS positivos, a doença de Whipple não é mais considerada como similar a CG dos cães.

As manifestações clínicas da CG são características de diarreia de intestino grosso, com fezes amolecidas com muco e sangue, assim como das demais colites as quais os BF são suscetíveis. Em casos mais graves podem estar associadas a perda de peso e redução de crescimento (VAN KRUININGEN et al., 1965; HOSTUTLER et al., 2004; MACDONOUGH; SIMPSON, 2009; CRAVEN; MANSFIELD; SIMPSON, 2011). Até o presente momento não há descrição de manifestações clínicas específicas que diferenciem as CG das não granulomatosas no BF. No entanto, a CG ocorre usualmente em animais jovens, frequentemente filhotes ou até 4 anos de idade, e aparentemente sem predileção por sexo (COCHRAN et al., 2021; MANCHESTER et al., 2013a, 2021; MERINO-GUTIERREZ; PUIG; FEO-BERNABE, 2022).

Apesar de a CG ter sido primariamente relatada em boxers (VAN KRUININGEN et al., 1965; GOMEZ et al., 1977; SIMPSON et al., 2006; MACDONOUGH; SIMPSON, 2009; CRAVEN et al., 2010; CRAVEN; MANSFIELD; SIMPSON, 2011; PAVARINI et al., 2011; DOGAN et al., 2020; MANCHESTER et al., 2021) e depois em BF (INGRID VAN DER GAAG; JIK VAN TOORENBURG, 1978; TANAKA; NAKAYAMA; TAKASE, 2003; MANCHESTER et al., 2013; DOGAN et al., 2020; CONRADO et al., 2022), ela também já foi descrita em outras raças: staffordshire terrier, doberman pinscher,

rottweiler, mastiff, beagles e malamute do alasca (STOKES *et al.*, 2001; ARGENTA *et al.*, 2018; CARVALLO *et al.*, 2015), e em gatos (LEAL *et al.*, 2017; MATSUMOTO *et al.*, 2019; WAITE; YAFFY; KATHRANI, 2023).

Os boxers e BF são considerados parte de um grupo racial ligado aos mastiffs e bullmastiffs, devido à herança genética similar, porém pouco descrita (FIX, 1982; PARKER *et al.*, 2017). Em boxers e BF, a susceptibilidade genética está ligada a uma região que codifica a família dos genes CD48/SLAM no cromossomo 38, que foi associado a DII em humanos (HAYWARD *et al.*, 2016).

A patogenia completa da CG ainda é pouco compreendida. Desde os primeiros relatos acreditava-se que a CG estava relacionada a uma bactéria, pois os animais apresentavam resposta terapêutica favorável a antibióticos, além de apresentar os mesmos macrófagos PAS positivos presentes em humanos com doença de Whipple, porém não era possível ainda identificar o agente infeccioso causador da lesão (VAN KRUININGEN *et al.*, 1965; VAN KRUININGEN, 1975; INGRID VAN DER GAAG; JIK VAN TOORENBURG, 1978; CHURCHER; WATSON, 1997; HOSTUTLER *et al.*, 2004).

O primeiro estudo que identificou a bactéria relacionada à etiopatogenia da CG ocorreu em 2006, e utilizou a técnica de FISH nas amostras de biópsia de cólon canino (SIMPSON *et al.*, 2006). O estudo avaliou amostras de 13 boxers com diagnóstico prévio de CG pela coloração de PAS, e 38 cães controle: 27 de raças diversas com outras formas de colite e 11 saudáveis. Foi observada a presença da ECEI nos macrófagos do interior da mucosa do intestino de 100% dos boxers acometidos com CG, e em nenhum dos 38 cães do grupo controle (SIMPSON *et al.*, 2006).

Neste mesmo estudo, foi realizada técnica de sequenciamento genético com 16S rDNA e imuno-histoquímica. Na imuno-histoquímica foram encontradas bactérias intramucosa, principalmente nos histiócitos, nos mesmos locais em que pelo FISH localizou-se as bactérias em questão. Em um dos boxers foi realizada nova biópsia após 3 meses de tratamento com antibioticoterapia e não foi encontrada ECEI por FISH ou IHQ.

A ECEI é uma bactéria com habilidades específicas de aderir e invadir o epitélio intestinal, além de replicar em macrófagos. Inicialmente ela adere e coloniza enterócitos antes de translocar e entrar na submucosa (PALMELA *et al.*, 2018). Em humanos, a ECEI está intimamente ligada a pacientes com doença de Crohn e colite

ulcerativa, e já foi isolada em diferentes populações, com ocorrência de 50% em pacientes com doença de Crohn (CONTE *et al.*, 2006; BARNICH; DARFEUILLE-MICHAUD, 2007; PALMELA *et al.*, 2018 LEE *et al.*, 2019).

A presença da ECEI em pacientes pediátricos com doença de Crohn sugere que a colonização da mucosa por esta bactéria pode iniciar inflamação crônica em indivíduos susceptíveis, o que altera a microbiota do hospedeiro (CONTE *et al.*, 2014). Entretanto, ainda não é claro se a ECEI é um determinante para a DII em humanos, um fator agravante em pacientes já doentes ou se ao alterar a microbiota dos pacientes perpetua a inflamação (PALMELA *et al.*, 2018).

No entanto, a doença de Crohn e a colite ulcerativa são doenças multifatoriais, classificadas como inflamatórias e idiopáticas, diferente do que inicialmente era classificada a CG canina. Ainda assim, associação da ECEI com a mucosa intestinal dos BF e boxers é similar aos achados em humanos com doença de Crohn (BARNICH; DARFEUILLE-MICHAUD, 2007; PALMELA *et al.*, 2018; ABDELHALIM; UZEL; GÜLŞEN ÜNAL, 2020). Em humanos, a detecção da ECEI é realizada pela cultura de fragmento de biópsia de íleo dos pacientes afetados, com posterior extração de DNA e realização de PCR para identificação da cepa da ECEI (CONTE *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2019).

Em paralelo, atualmente o padrão de diagnóstico da CG em BF é a avaliação histopatológica de biópsias de cólon dos cães, coradas especificamente com PAS posteriormente IHQ (ISHII *et al.*, 2022; VAN KRUININGEN *et al.*, 1965).

Uma ferramenta diagnóstica adicional foi descrita em 2021, em um relato de caso, no qual foi utilizada ultrassonografia com doppler e contraste intravenoso, técnica denominada CEUS (“*contrast-enhanced ultrasonography and shear-wave elastography*”) em um filhote de 11 meses de BF com quadro clínico de diarreia crônica com muco e sangue. Esta técnica é comumente utilizada na medicina humana, para diagnóstico e monitoramento da colite ulcerativa e doença de Crohn. Nela, podem ser avaliadas as alças intestinais, estratificação parietal das camadas, fluxo sanguíneo dos vasos, presença de nódulos em mucosa e submucosa, massas, perfusão. Neste caso, o diagnóstico foi confirmado com biópsia de cólon e coloração de PAS, mas sem a técnica de FISH (CORDELLA *et al.*, 2021).

Recentemente foi aventado por Conrado *et al.* (2022) outra possibilidade diagnóstica para CG. Em seu relato de caso, foi realizada citologia de cólon, com

realização de coloração de PAS e FISH, associada a coleta de material de tecido do cólon para cultura e antibiograma. Foi observada correlação positiva dos achados de biópsia coletada por colonoscopia com os achados da citologia. No entanto, por ser um relato de caso, é necessária realização de mais estudos para que se comprove que é possível a reprodução desta técnica em maior número de animais, e assim a utilização da citologia no diagnóstico da CG (CONRADO et al., 2022).

As ECEI são os agentes etiológicos da CG. Assim, a correlação entre a presença de ECEI nos macrófagos e a resposta ao tratamento com antibióticos sugere que de fato as bactérias são os principais fatores patogênicos da CG, e o tratamento visa controle das manifestações clínicas pela erradicação das ECEI (SIMPSON et al., 2006; CRAVEN; MANSFIELD; SIMPSON, 2011).

Dessa forma, antibioticoterapia é a recomendação e deve ser realizada com fármacos capazes de penetrar nos enterócitos e macrófagos e atingir adequada concentração celular, como as quinolonas, principal classe de antibióticos utilizada nesses casos e associada ao sucesso no tratamento e remissão do quadro a longo prazo (SIMPSON et al., 2006; MACDONOUGH; SIMPSON, 2009; CRAVEN et al., 2010; CRAVEN; MANSFIELD; SIMPSON, 2011; LECHOWSKI et al., 2013; MANCHESTER et al., 2013). Em estudos que avaliaram a eficácia terapêutica, os autores sugerem o uso da enrofloxacin na dose de 5 a 10 mg/kg a cada 24 horas, por 6 a 8 semanas (CRAVEN; MANSFIELD; SIMPSON, 2011; MANCHESTER et al., 2021).

É recomendada a realização de biópsia após o tratamento para comprovação da remissão da doença e erradicação da ECEI (CRAVEN; MANSFIELD; SIMPSON, 2011). Outros antibióticos capazes de penetrar nos enterócitos e macrófagos são: cloranfenicol, florfenicol, rifamicina, sulfa-trimetoprim, tetraciclina e claritromicina (VAN KRUININGEN et al., 1965; CRAVEN; MANSFIELD; SIMPSON, 2011; MERINO-GUTIERREZ; PUIG; FEO-BERNABE, 2022).

A resistência a antibióticos se torna progressivamente mais frequente, principalmente às fluoroquinolonas, o que reduz a resposta aos tratamentos, as opções terapêuticas e o prognóstico. Já foi reportada resistência a antimicrobianos em até 62,5% dos casos de CG (CRAVEN et al., 2010; LUCENA; NOVALES; GINEL, 2017; MANCHESTER et al., 2021). Os autores sugerem que seja realizada a cultura e antibiograma do fragmento de cólon no momento do diagnóstico e se escolha um

antibiótico sensível e capaz de penetrar nos macrófagos. O uso de antibiograma para guiar tratamento de acordo com susceptibilidade individual do paciente melhora o prognóstico (MANCHESTER *et al.*, 2021). Em caso de cepas multirresistentes, os autores sugerem o uso de combinações de antibióticos, mesmo que o paciente seja resistente a um dos fármacos, pois juntos podem ter efeito sinérgico (CRAVEN; MANSFIELD; SIMPSON, 2011).

No entanto, a realização da cultura e antibiograma e a posterior identificação da ECEI não é um procedimento simples, pois após a cultura é necessária a confirmação da identificação da cepa correta da *E. coli* em ECEI por PCR (CRAVEN *et al.*, 2010; MANCHESTER *et al.*, 2013, 2021).

Desta forma, o diagnóstico preciso das colites auxilia no tratamento e melhora consideravelmente o prognóstico, principalmente nas raças com maior predisposição à ocorrência da CG, como os buldogues franceses. Na literatura há poucos estudos que tenham comparado o cenário clínico, manifestações clínicas específicas de cada colite e as possibilidades diagnósticas em cães da raça buldogue francês com diarreia crônica de intestino grosso.

3. OBJETIVOS

Principal:

Investigar aspectos clínicos que possam auxiliar no diagnóstico diferencial de cães BF com diarreia crônica e suspeita de CG.

Secundários:

- Descrever manifestações clínicas, achados diagnósticos e desfechos de casos de BF com diarreia crônica, comparativamente entre os com e sem CG
- Comparação das características clínicas, epidemiológicas e resposta terapêutica dos cães BF com CG *versus* colite não granulomatosa (CNG);

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos e de experimentação animal, sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Protocolo número: 3186100222).

Foram selecionados os prontuários e os blocos de parafina provindos de biópsia de íleo e cólon de cães da raça BF, atendidos na rotina do serviço de gastroenterologia veterinária Gastrovet, na cidade de São Paulo, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2022, com quadro clínico de diarreia crônica. Foram considerados como critérios de inclusão: cães da raça BF; com diarreia há mais de 3 semanas; machos ou fêmeas; de faixas etárias variadas; sem afecções concomitantes; que tenham sido submetidos a biópsia por colonoscopia ou laparotomia, previamente ao tratamento instituído; com biópsia de cólon, íleo ou ambas as porções intestinais, e disponibilidade dos blocos de parafina com as amostras de tecido.

Animais previamente diagnosticados com doenças metabólicas, como doença renal crônica (concentração sérica de creatinina maior que 1,5 (IRIS, 2019), doença hepática, hipoadrenocorticism (cortisol basal menor que 2mg/dL ou teste de estimulação por ACTH positivo), endoparasitas (coproparasitológico positivo), giardíase (achado coproparasitológico ou SNAP positivo) e neoplasias (por meio de diagnóstico histopatológico) não foram incluídos no estudo. Animais dos quais as amostras histopatológicas estivessem inadequadas, ou seja, com segmento de cólon ausente, fragmentos insuficientes ou de má qualidade foram excluídos.

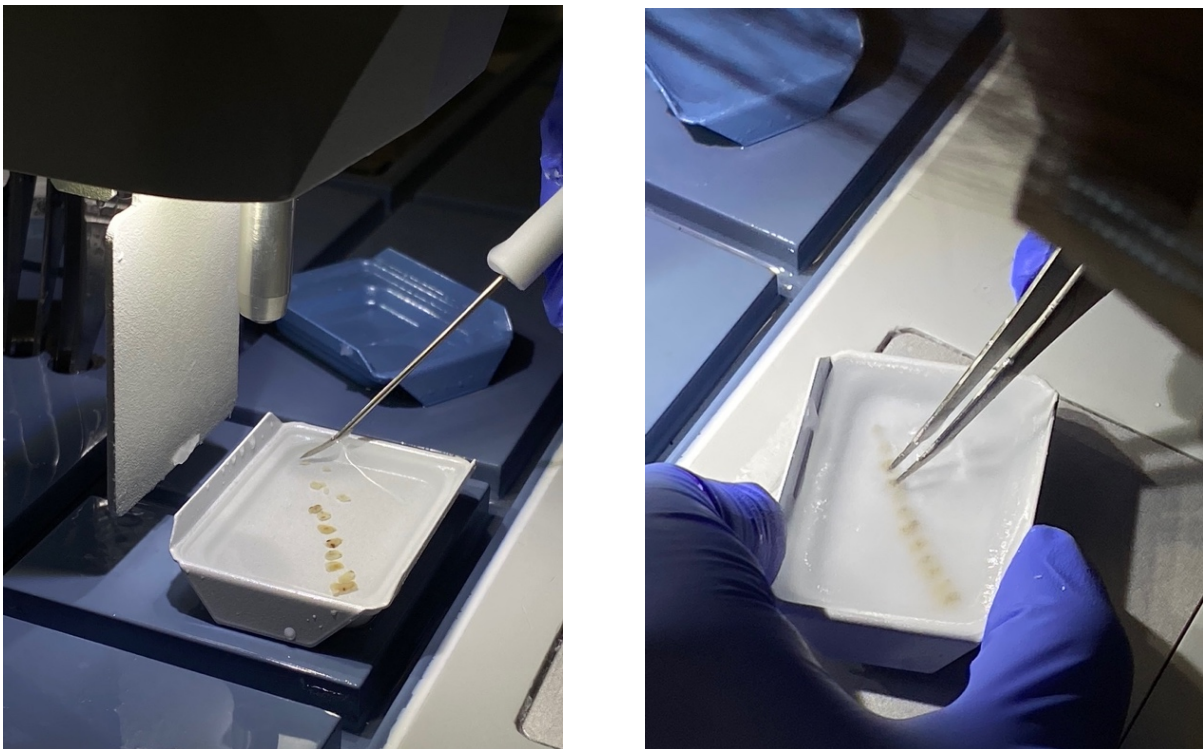
Os blocos de parafina dos animais selecionados foram enviados ao Laboratório de Gastroenterologia da *Veterinary Medicine & Biomedical Sciences* (GILAB – Texas A&M University; Estados Unidos da América - EUA). Os blocos de parafina, dos segmentos de íleo e cólon, de cada paciente, foram deparafinizados, reidratados e novamente emblocados no padrão específico do laboratório. Este padrão de parafinização é realizado com o alinhamento dos fragmentos de biópsia na mesma direção (figura 1), em ordem crescente de tamanho e separados uns dos outros, sem permitir aglutinação dos fragmentos (figura 2).

Na sequência, foram elaboradas novas lâminas para análise histológica, com coloração HE, PAS (figura 3) e realizada técnica de IHQ (ISHII et al., 2022). Quatro animais foram excluídos pois as amostras de íleo e cólon não estavam adequadas

para avaliação, apresentando artefatos e falhas na identificação do material, baixo número de fragmentos por segmento intestinal ou má qualidade das amostras.

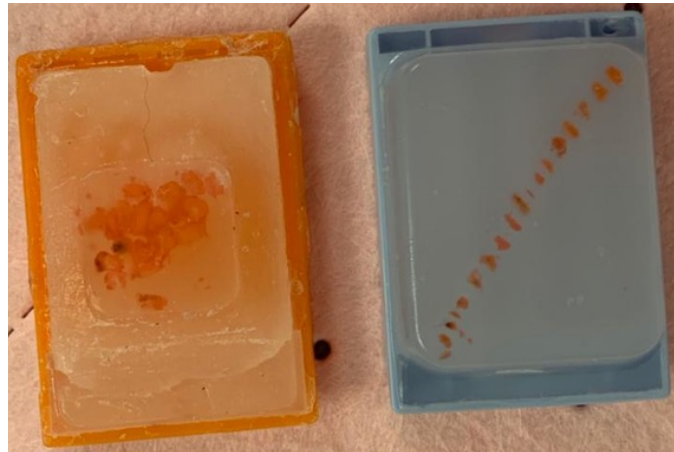
Para a realização da IHQ foram cortadas seções de 4 μm de espessura dos tecidos e montadas em lâminas histológicas tratadas para adesão eletrostática. As lâminas foram então mantidas em secagem por 12 horas, a 40°C. Em seguida, foi realizada a recuperação antigênica induzida por calor, em cozedor por pressão (*Retriever for antígeno unmasking; Electron Microscopy Sciences*), aquecendo as lâminas a 121°C por 20 minutos em solução de tampão de citrato 1 \times , pH 4,5 (R-Buffer C10 \times ; Microscopia Eletrônica Sciences), seguido por bloqueio de peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 3%, por 10 minutos e tampão de bloqueio de proteína UV (bloco de proteína UltraVision; Richard-Allan Scientific) por 15 minutos.

Figura 1 – Realização do realinhamento dos fragmentos de biópsia durante a nova emblocagem com organização dos fragmentos por ordem de tamanho, e posicionamento de todos na mesma direção, com objetivo de facilitar o patologista no momento da leitura da lâmina histológica.



Fonte: Pereira, A.R., (2022).

Figura 2 – Comparativo dos blocos de parafina: lado esquerdo provindo do laboratório de origem, antes da reblockagem, com as amostras aglutinadas não sendo possível identificação individual dos fragmentos. Lado direito bloco de parafina no padrão do laboratório americano com as amostras individualizadas e direcionadas para facilitar a leitura da lâmina pelo patologista após corte e coloração.



Fonte: Pereira, A.R., (2022).

Figura 3 – Local de realização da coloração histológica de ácido periódico de schiff (PAS) no laboratório de gastroenterologia dos Estados Unidos: recipientes com corantes da coloração de PAS e locais de colocação das lâminas para realização da coloração, protocolo impresso, cronômetro e grade para secar as lâminas após a coloração.



Fonte: Pereira, A.R., (2022).

Posteriormente, os tecidos foram incubados por 1 hora a temperatura ambiente, com um anticorpo policlonal anti-*E. coli* contra sorotipos antigênicos O e K

(Anti-*E. coli*, 1001; ViroStat), produzido em coelhos, e diluído a 1:200 com diluente de anticorpo (solução de reagente de diluente de anticorpo *Life Technologies*).

Todas as lâminas, com as três colorações, foram digitalizadas em objetiva 40× com um scanner de lâminas (*Nano-Zoomer 2.0 HT da Hamamatsu Photonics*) e visualizados com o software *NDP.view (Hamamatsu Photonics)*. Todas as lâminas e blocos foram arquivados e devidamente identificados para posterior análise pelo patologista na próxima fase. A análise histopatológica foi realizada por um patologista veterinário diplomado pelo American College of Veterinary Pathologists (ACVP), de maneira cega, ou seja, sem acesso às informações clínicas ou resultado das análises histopatológicas anteriores. A avaliação histopatológica no HE seguiu as recomendações consensuais publicadas pela WSAVA (*DAY et al., 2008*), e atualizações (*ALLENSPACH et al., 2019; JERGENS et al., 2014*).

Foram considerados cães com CG aqueles que apresentaram reação positiva na IHQ para *E. coli* em fragmento de cólon, íleo ou ambos, associada a infiltrado histiocítico e PAS positivo. Os animais que não apresentavam estes parâmetros foram classificados como "Colite não granulomatosa" (CNG). Estes apresentaram alterações histopatológicas com infiltrados inflamatórios diversos como linfoplasmocítica (LP), neutrofílica e eosinofílica (NE) ou ainda ausência de infiltrado inflamatório (NI), quando apresentavam infiltrado inflamatório normal. Foi utilizada ainda a nomenclatura de "enterite granulomatosa" nos pacientes com colite e ileíte granulomatosa associadas e "Enterite eosinofílica"; "Enterite neutrofílica" ou "Enterite eosinofílica e neutrofílica" aos pacientes com infiltrado eosinofílico e neutrofílico em íleo ou íleo e cólon associados.

Dos prontuários médicos, foi realizado o levantamento dos seguintes dados: idade, sexo, escore de condição corporal (ECC) e achados laboratoriais, sendo estes: hemograma (eritrograma e leucograma) com contagem de plaquetas; dosagem da concentração sérica de cortisol basal, creatinina, ureia, albumina, atividade sérica das enzimas alaninoaminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA), cobalamina, folato e tripsinogênio sérico (TLI); ultrassonografias abdominais, tratamento instituído previamente e após biópsia, resposta terapêutica e manifestações clínicas relacionadas a diarreia, como aumento da frequência de defecação, gases, disquesia, dor e presença de muco e sangue, que foram tratadas de forma qualitativa e nominal (presente x ausente). Os achados laboratoriais foram avaliados individualmente, e se

alterados, avaliados separados em grupos diagnósticos de CG e CNG.

Foi analisada a relação da classificação diagnóstica com as variáveis clínicas e o desfecho de cada paciente retirado dos prontuários médicos. O desfecho é a categorização da resposta ao tratamento em “não resposta”, “resposta parcial” e “resposta completa”. “Não resposta” serão os animais que não obtiveram melhora clínica após tratamento instituído, permanecendo quadro de diarreia idêntica à fase anterior ao tratamento. “Resposta parcial” serão os pacientes que apresentaram melhora parcial do quadro de diarreia, porém sem cessar completamente. E “resposta completa”, os pacientes que cessarem os episódios de diarreia por completo.

Em relação as manifestações clínicas, foram obtidos dos prontuários somente as características associadas ao padrão de defecação dos cães. Foi considerado diarreia, o padrão fecal com aumento da frequência de defecação, alteração da consistência ou volume fecal. Foi considerado "diarreia diária" quando havia descrição no prontuário de episódios de fezes amolecidas com frequência diária, e "diarreia intermitente", quando relatados quadros de fezes amolecidas com intervalos de dias, semanas ou meses entre os quadros referidos pelos tutores. Também foram descritos os dados relativos à presença de muco e sangue nas fezes, aumento da frequência de defecação, disquezia, urgência e êmese. A alimentação dos cães também foi relatada quando descrita, e classificada em comida caseira ou alimento comercial extrusado, sendo este subdividido em “hipoalergênica”, “gastrointestinal” e “alimento manutenção”.

Os dados foram apresentados sob a forma de estatística descritiva. A associação entre as variáveis clínicas, os achados histopatológicos e o desfecho foram analisados por meio do teste de Fisher e Kruskal-Wallis. A idade dos pacientes, foi comparada entre os grupos (CG x CNG) por teste não paramétrico de Mann-Whitney. A proporção entre machos e fêmeas e a frequência das manifestações clínicas foram comparadas entre os grupos pelo teste exato de Fisher. Para a frequência de diarreia (diária x intermitente), em que houve diferença entre os grupos, foi calculada a razão de probabilidade (OR) usando modelos de regressão com um único preditor. Diferença foram consideradas quando $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

Foram selecionados inicialmente os blocos de parafina provindos de biópsia de 38 cães da raça BF, atendidos em 10 hospitais diferentes. Os blocos foram provenientes de oito laboratórios de patologia diferentes, nos quais as análises histológicas foram realizadas. Ao todo foram obtidos 90 blocos de parafina no total, porém, os referentes aos segmentos de estômago e duodeno foram excluídos.

Dos 38 BF selecionados, quatro foram excluídos devido má qualidade das amostras. Dos prontuários médicos, cinco não estavam disponíveis, portanto, esses foram excluídos das análises clínicas, mas optou-se por mantê-los para as avaliações histopatológicas e epidemiológicas. Assim, foram considerados n=34 para avaliações histológicas e n=29 para avaliações de prontuário médico.

Na reavaliação histológica realizada no laboratório GILAB, 38,23% (n=13/34) receberam diagnóstico final de CG, pela patologista. Os demais foram considerados como CNG, subdivididos em 11,76% de LP (4/34), 32,35% NE (11/34) e 17,65% NI (6/34).

Nas avaliações de colorações PAS, foram observados 38,23% cães positivos em cólon (13/34) e 41,18% positivos na IHQ de cólon (14/34). O paciente #22 obteve PAS negativo e IHQ positivo, porém com ausência de infiltrado histiocítico no histopatológico, sendo considerado CNG no diagnóstico final. Nos demais pacientes houve compatibilidade dos resultados de IHQ e PAS.

Nas amostras de íleo, foram observados 5,90% dos cães positivos na coloração PAS (2/34) e 2,94% (1/34) na IHQ. Todos os animais positivos em PAS ou IHQ de íleo foram positivos na coloração de PAS ou IHQ de cólon, portanto, independente do resultado da análise de íleo, todos positivos em íleo em PAS e/ou IHQ foram considerados como cães com CG. Em 14,71% (5/34) dos cães não havia amostras de íleo, portanto não foi realizada a avaliação deste segmento nesses pacientes. Assim, dentre os animais com CG e íleo avaliado, 75,00% (6/8) apresentaram positividade em cólon, mas sem evidência de infiltração por ECEI nos enterócitos de íleo (Quadro 1). Nas figuras 5, 6 e 7 podem ser observadas as colorações de HE, PAS e IHQ respectivamente.

Na comparação entre os diagnósticos histopatológicos realizados no Brasil e os realizados pela patologista certificada, foram observadas 19 divergências. Dentre estas, 15 divergências em diagnósticos de cólon, das quais 2 animais foram

considerados inicialmente com CG e na reavaliação foram classificados como LP; quatro eram LP e foram reclassificados como CG e nove receberam laudo de colite LP e na nova avaliação não apresentaram infiltrado inflamatório e foram classificados como NI (quadro 1).

Nas análises de íleo houve 12 divergências de diagnóstico, dos quais em oito ocorreu a mesma mudança observada com conclusão diagnóstica de cólon. Destas 12 divergências, dois animais obtiveram mudança da classificação diagnóstica de ileíte LP para ileíte granulomatosa; dois de ileíte granulomatosa para ileíte LP e oito de ileíte LP para NI.

Nas análises histopatológicas realizadas no Brasil, dos 34 BF, em cinco não foi realizada coloração PAS e, destes, nenhum foi positivo na coloração PAS realizada nos EUA. Dos 12 animais positivos em PAS de cólon no Brasil, três foram negativos em PAS e IHQ nos EUA (animais #4, #14, #34).

Dos 34 cães, 23,53% eram fêmeas (8/34) e 76,48% machos (26/34). Na comparação entre os grupos diagnósticos, na CG havia 76,92% machos (10/13) e 23,07% fêmeas (3/13) e no grupo CNG, 76,19% machos (16/21) e 23,81% fêmeas (5/21), sem diferença estatística entre os dois grupos ($p > 0.9999$). Dentre os pacientes com CG, a idade ao diagnóstico variou de 7 a 28 meses (média 1,3 ano) e nas CNG de seis a 96 meses (2,8 anos). Não houve diferença entre os grupos com relação a faixa etária ($p = 0,2053$). Na quadro 2 podem ser observados mais detalhes sobre a distribuição de idade, machos/ fêmea e a frequência dos episódios de diarreia entre as diferentes classificações histopatológicas.

Dentre os 29 pacientes os quais obtivemos acesso ao prontuário, 31,03% obtiveram diagnóstico de CG (9/29) e 68,95% CNG (20/29), nas avaliações histopatológicas realizadas nos EUA. Não havia informação do CCECAI nos prontuários e não havia informação suficiente para o cálculo do mesmo em todos os pacientes.

Dentre as manifestações clínicas (quadro 3), foram relatados muco e sangue nas defecações [96,55% (28/29)]; prolapso de reto [6,90% (2/29)]; dor abdominal e/ou disquezia [79,31% (23/29)]; ECC reduzido [24,13% (7/29)]; aumento da frequência de defecação [86,20% (25/29)]; urgência para defecar [75,86% (22/29)] e êmese [55,17% (16/29)] (quadro 3). Não houve diferença entre os grupos CNG e CG quanto a ocorrência dessas manifestações clínicas, exceto na comparação da frequência de

episódios de diarreia. Foi avaliado entre os pacientes com CG e CNG se os mesmos apresentavam diarreia diária ou intermitente. Dentre os BF com CG é mais frequente a diarreia diária, enquanto nos CNG, intermitente ($p=0,0043$). Na avaliação de risco relativo, nos cães com CG o risco é 3,1 vezes maior de apresentar alteração fecal diária do que no grupo CNG, com *odds ratio* de 20.0 (95% intervalo de confiança, 2,3 a 233,1) (quadro 2).

Ao exame físico, o escore de condição corporal (ECC) dos animais foi descrito em 72,41% dos prontuários (21/29), e 24,14% (7/29) o apresentavam reduzido, sendo 42,86% (3/7) com CG, 57,14% com CNG (4/7) (quadro 3).

Quanto à alimentação, 37,93% (11/29) dos cães recebiam comida caseira, 55,17% (16/29) alimento comercial e 3,45% (1/29) alimento comercial com carne ou frango misturado. Em um prontuário não havia informação sobre alimentação do animal. Dos animais que comem alimento comercial, 50,00% (8/16) recebiam hipoalergênico, 18,75% (3/16) gastrointestinal comum (sem suplementação de fibra ou baixa em gordura) e 31,25% (5/16) alimento de manutenção. Dentre os animais com diagnóstico de CG ($n=9$), 44,45% (4/9) já eram alimentados com alimento comercial hipoalergênico, 33,33% (3/9) com comida caseira e 22,22% (2/9) com ração gastrointestinal. Os pacientes que não comem alimento hipoalergênico foram submetidos a dieta hipoalergênica e nenhum apresentou resposta terapêutica.

Nos pacientes com infiltrado CNG, foram relatados os seguintes alimentos prévios ao primeiro atendimento ($n=20$): ração hipoalergênica 20,00% (4/20); comida caseira 40,00% (8/20); ração gastrointestinal 10,00% (2/20); outras rações não terapêuticas 15,00% (3/20); em 15,00% dos prontuários não havia informação sobre a dieta dos pacientes (3/20). Dos 20 pacientes acima, 60,00% (12/20) foram submetidos a dieta hipoalergênica, e 50,00% dos animais respondeu parcialmente (6/12).

Todos os cães foram submetidos a exames laboratoriais prévios a biópsia. Hemograma ($n=29$); concentração sérica de cortisol ($n=1$), creatinina ($n=29$), ureia ($n=29$), albumina ($n=29$), TLI ($n=7$) atividade sérica das enzimas alanina aminotransferase ($n=29$) e fosfatase alcalina ($n=29$) estavam dentro do intervalo de referência.

Dos 29 BF com prontuários disponíveis, 17,24% (5/29) apresentaram coproparasitológico positivo para giárdia, porém foram submetidos a tratamento

prévio a biópsia até apresentarem novo coproparasitológico sem evidências do parasita. Em 69,00% dos prontuários (20/29), havia a informação sobre exame de ultrassonografia abdominal, das quais 85,00% (17/20) apresentavam espessamento em cólon, 35,30% (6/17) com CG, e 64,70% com CNG (11/17). Dentre os pacientes CNG com espessamento de cólon na ultrassonografia (n=11), 9,09% apresentaram infiltrado neutrofílico (1/11); 9,09% infiltrado eosinofílico associado a neutrofílico (1/11); 18,18% infiltrado linfoplasmocítico e 45,45% não apresentavam nenhum infiltrado inflamatório.

Dos 29 cães, para 13,80% foi encontrada informação quanto a concentração sérica de cobalamina e folato (4/29). O único animal que apresentou hipocobalaminemia e hipofolatemia fora diagnosticado com CG e ileíte granulomatosa; enquanto os outros apresentaram: dois CG e um colite eosinofílica e neutrofílica.

Todos os cães receberam tratamento medicamentoso prévio à biópsia: 79,31% (23/29) antibiótico; 48,27% (14/29) cortisona (prednisona, prednisolona ou budesonida); 41,37% vermífugos (12/29); 24,13% mesalazina (7/29); 17,24% omeprazol (5/29) e 6,89% pancreatina (2/29). A dose, frequência e tempo de uso das medicações não estava clara nos prontuários. Todos os cães receberam mais de um tratamento, sendo 37,9% (11/29) tanto cortisona quanto antibiótico antes da coleta da biópsia.

Especificamente quanto à antibioticoterapia, em 17,24% (5/29) foi administrado um antibiótico prévio a biópsia, 34,48% (10/29) dois, 31,03% (9/29) três e em 6,90% (2/29) foram administrados quatro antibióticos, não necessariamente simultaneamente. Em 6,90% dos prontuários (2/29) não havia informações sobre antibioticoterapia prévia à biópsia. E em 13,80% dos animais não foi utilizado nenhum antibiótico (4/29). Dentre os grupos, 88,89% dos BF (8/9) com CG receberam antibioticoterapia enquanto no CNG isso ocorreu em 75,00% (15/20) dos animais (quadro 2).

Dentre os antibióticos prévios a biópsia, os mais prescritos foram o metronidazol [72,41% (21/29)] e a enrofloxacina [31,03% (9/29)]. Além destes, foi relatada a administração de sulfametoxazol com trimetoprim [10,34% (3/29)], metronidazol com sulfametoxazol [41,37% (12/29)], metronidazol com espiramicina [6,89% (2/29)], amoxicilina com clavulanato de potássio [6,89% (2/29)], doxiciclina

[6,89% (2/29)], e tilosina [3,45% (1/29)]. Não havia dados concretos sobre dose, frequência ou tempo de administração.

De 34 cães, 58,82% (20/34) tinham cultura bacterianas e antibiograma de fragmento de cólon coletados no momento da biópsia, no Brasil. Destas 20 culturas bacterianas, 85,00% resultaram em *E.coli* (17/20) e 41,18% sensíveis a enrofloxacino (7/17). No entanto, 45,00% (9/20) dos animais eram positivos para CG, sendo sete com crescimento de *E.coli* (quadro 4). Nenhuma amostra havia PCR bacteriano para identificação da cepa da *E.coli* em enteroinvasiva.

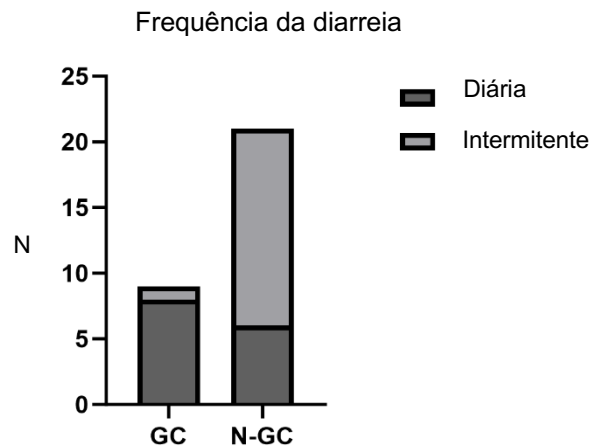
Após a biópsia, os cães receberam diversas classes de medicação: cortisona [12/29 (41,38%)], antibiótico [18/29 (62,07%)], cortisona com antibiótico associados [9/29 (31,03%)] e ciclosporina [8/29 (27,59%)] (quadro 4). Todos os 9 pacientes diagnosticados com CG receberam antibióticos após a biópsia, sendo estes: enrofloxacino em 44,44% (4/9), sob dose de 10 mg/kg/dia por 90 dias; azitromicina em 44,44% (4/9) sob dose de 10 mg/kg/dia por 90 dias e sulfametoxazol + trimetropim em 11,11% (1/9), sob a dose de 30 mg/kg/dia por 90 dias. Já nos CNG que receberam antibioticoterapia após a biópsia (n=9), foram administrados: enrofloxacino ou outras quinolonas em 77,78% (7/9) (sem informação sobre dose e período de administração nos prontuários); metronidazol 7,5 e 15 mg/kg/ cada 12 horas de 7 a 14 dias 11,11% (1/9) e amoxicilina + ácido clavulânico 20 mg/kg/ cada 12 horas por 15 dias 11,11% (1/9).

Quanto a resposta terapêutica dos pacientes, 48,27% dos animais obtiveram resposta completa ao tratamento (14/29), 24,14% resposta parcial (7/29), 17,24% não responderam ao tratamento (5/29) e 10,35% não retornaram em consulta (3/29). Dentre os grupos diagnósticos, nos pacientes com CG, 55,55% obtiveram resposta completa ao tratamento instituído (5/9); 33,33% resposta parcial (3/9) e 11,11% não obtiveram resposta (1/9). No grupo CNG, 45,00% obtiveram resposta completa ao tratamento instituído (9/20); 20,00% resposta parcial (4/20); 20,00% não obteve nenhuma resposta (4/20) e 15,00% não retornou ao atendimento, portanto não é sabido desfecho final (3/20).

Após tratamento, do total, o desfecho em 55,17% (16/29) foi recidiva do quadro de diarreia após primeiro ciclo de tratamento; em 27,59% (8/29) foi manutenção da estabilidade gastrointestinal. Dentre o grupo CG (N=9), 77,78% recidivaram (7/9), 22,22% estabilidade (2/9); 10,34% (3/29) não retornaram; um paciente foi a óbito por

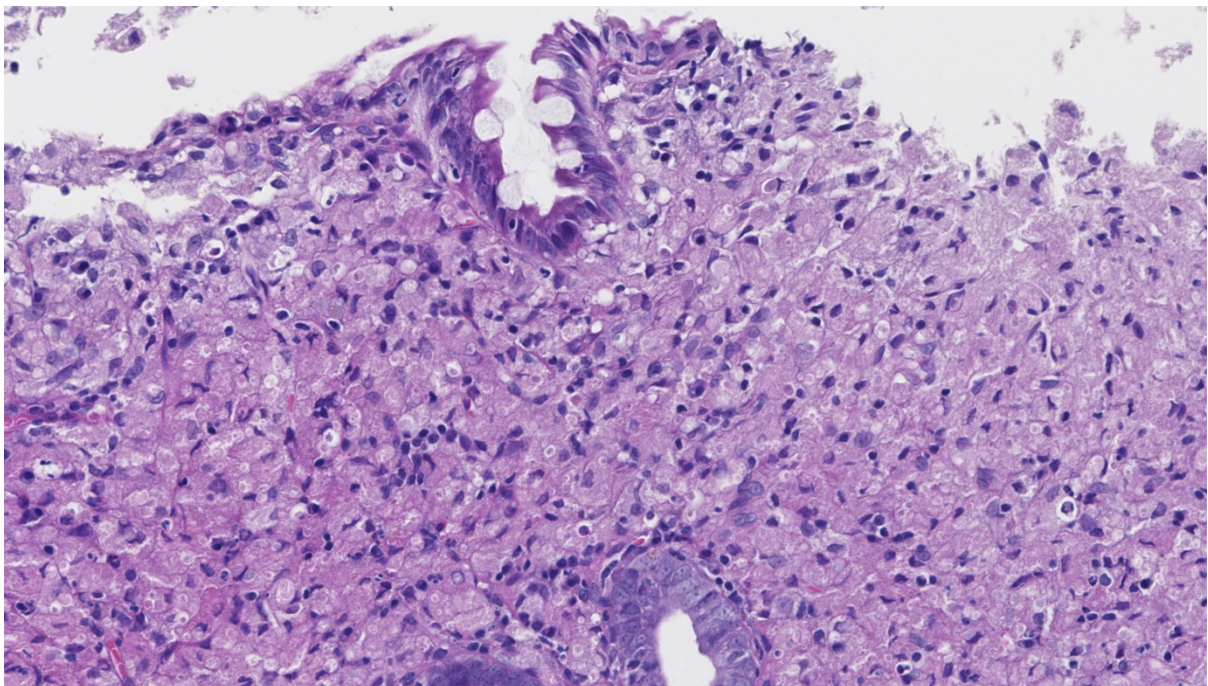
questões alheias ao trato gastrointestinal; e outro não havia terminado tratamento até a coleta dos dados. No grupo CNG, 45,00% recidivaram (9/20), 30,00% estabilidade (6/20), 20% não possuíam informação no prontuário (4/20) e 5% óbito (1/20).

Figura 4: Distribuição da frequência da diarreia nos cães da raça buldogue francês, classificada entre diária (quando apresentada todos os dias) e intermitente (quando apresentada com frequência variável), de acordo com diagnóstico de colite granulomatosa ou não colite granulomatosa.



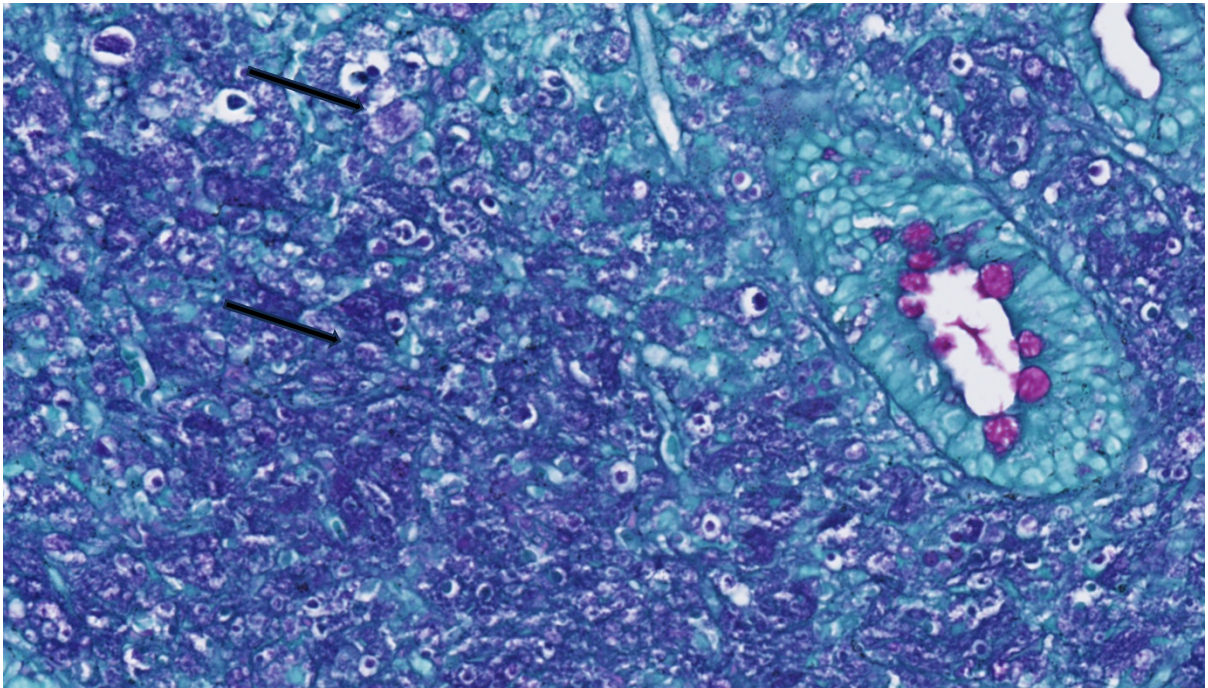
Fonte: Pereira, A.R., (2024).

Figura 5- Cólon de um cão com colite granulomatosa associada a *E. coli corado* com hematoxilina e eosina (H&E). A lâmina própria contém numerosos macrófagos com citoplasma abundante. O epitélio superficial contém erosões. Coloração H&E, 400X.



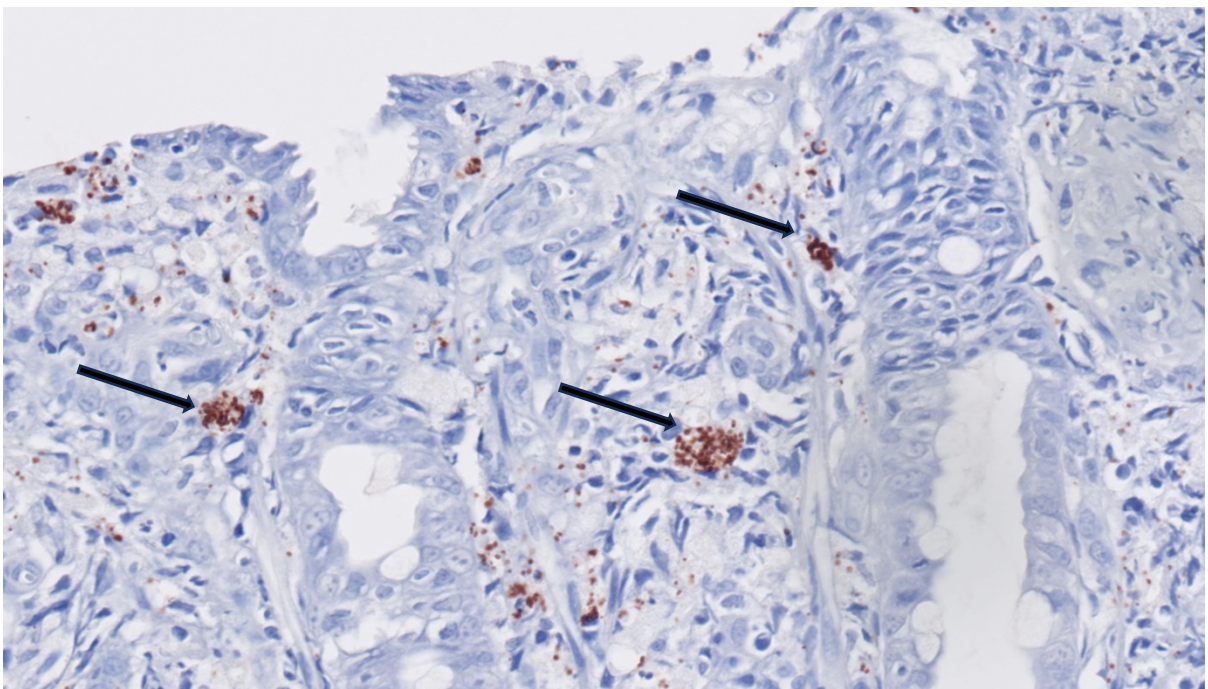
Fonte: Pereira, A.R., (2024).

Figura 6 - Cólon de um cão com colite granulomatosa associada a *E. coli*. Em uma coloração com ácido periódico de Schiff (PAS), o citoplasma dos macrófagos na lâmina própria é magenta a roxo (PAS positivo, setas). PAS, 400x.



Fonte: Pereira, A.R., (2024).

Figura 7 - Cólon de um cão com colite granulomatosa associada a *E. coli*. A imunohistoquímica para *E. coli* mostrou raros bacilos intracitoplasmáticos em macrófagos imunomarcados em vermelho escuro (setas). IHQ, 400X.



Fonte: Pereira, A.R., (2024)

Quadro 1 – Resultados do histopatológicos realizado no Brasil com histopatológicos realizado nos Estados Unidos.

ID	Diagnóstico final Brasil	PAS Brasil	Histopatológico Estados Unidos (cólon)	PAS cólon	IHQ Cólon	Histopatológico Estados Unidos (íleo)	PAS íleo	IHQ íleo	Diagnóstico final (EUA)
1	CG	Positivo	CG discreta	Positivo	Positivo	Ent NE discreta	Negativo	Negativo	CG
2	Col/ IL LP	Não realizado	Cólon normal	Negativo	Negativo	Dilatação lacteal discreta	Negativo	Negativo	NI
3	CG	Positivo	CG grave erosões	Positivo	Positivo	Ent NE discreta	Negativo	Negativo	CG
4	CG	Positivo	Col EOS/NE moderada	Negativo	Negativo	Sem amostra	X	X	Col EOS/NE
5	Col/ IL LP	Negativo	Col LP moderada erosões	Negativo	Negativo	Ent LP/NE discreta	Negativo	Negativo	Col LP
6	CG	Positivo	CG grave erosões	Positivo	Positivo	Ent Granulomatosa discreta	Positivo	Positivo	CG
7	CG	Positivo	CG grave erosões	Positivo	Positivo	Enterite granulomatosa moderada	Positivo	Negativo	CG
8	Col/ IL LP	Não realizado	Cólon normal	Negativo	Negativo	Ent EOS/NE Focal discreta	Negativo	Negativo	Ent EOS/NE
9	Col/ IL LP e EOS	Negativo	Cólon normal - 1 amostra adequada	Negativo	Negativo	Íleo normal	Negativo	Negativo	NI
10	Col NE/LP/ IL EOS/ LP	Negativo	Cólon normal	Negativo	Negativo	Ent. LP discreta	Negativo	Negativo	Ent LP
11	Col LP	Negativo	Cólon normal	Negativo	Negativo	Ent. EOS discreta	Negativo	Negativo	Ent EOS
12	CG	Positivo	CG grave erosões	Positivo	Positivo	Ent LP/ NE discreta	Negativo	Negativo	CG
13	Col/ IL LP	Negativo	Col NE discreta e	Negativo	Negativo	Ent NE discreta	Negativo	Negativo	Col NE

14	CG	Positivo	Col LP discreta e pólipo hiperplásico	Negativo	Negativo	Dilatação lacteal discreta	Negativo	Negativo	Col LP
15	Col/ IL LP	Não realizado	Cólon normal	Negativo	Negativo	Ent. NE Discreta	Negativo	Negativo	Ent NE
16	Col/ IL LP	Negativo	Col LP discreta	Negativo	Negativo	Ent LP discreta	Negativo	Negativo	Col LP
17	Col/ IL LP	Não realizado	Cólon normal	Negativo	Negativo	Íleo normal	Negativo	Negativo	NI
18	Col EOS piogranulomatosa	Negativo	Col EOS discreta	Negativo	Negativo	Dilatação lacteal discreta	Negativo	Negativo	Col EOS
19	IL LP	Negativo	Cólon normal	Negativo	Negativo	Sem amostra	X	X	NI
20	Col/ IL LP	Negativo	Cólon normal	Negativo	Negativo	Dilatação lacteal discreta	Negativo	Negativo	NI
21	CG	Positivo	CG grave erosões	Positivo	Positivo	Íleo normal	Negativo	Negativo	CG
22	CG	Positivo	CG grave erosões	Positivo	Positivo	Sem amostra			CG
23	Col/ IL LP	Não realizado	Cólon normal	Negativo	Negativo	Ent. NEUT. Discreta somente 1 amostra	Negativo	Negativo	Ent NE
24	Col/ IL LP	Negativo	Discreta injúria epitelial dilatação cripta	Negativo	Positivo	Íleo normal	Negativo	Negativo	NI
25	Col/ IL LP	Negativo	Col NEUT discreta	Negativo	Negativo	Sem amostra	X	X	Col NE
26	Col/ IL LP	Negativo	Col EOS discreta	Negativo	Negativo	Ent EOS com nematódeos- íleo descrito como cólon	Negativo	Negativo	Col EOS

27	Col/ IL LP	Negativo	Colite EOS /NEUT moderada	Negativo	Negativo	Edema lâmina própria e dilatação lacteal discreta	Negativo	Negativo	Col EOS/ NE
28	Col/ IL LP	Negativo	CG moderada/erosões	Positivo	Positivo	Íleo normal- somente ponta da vilosidade	Negativo	Negativo	CG
29	Col/ IL LP	Negativo	CG e LP discreta	Positivo	Positivo	Íleo normal	Negativo	Negativo	CG
30	CG	Positivo	CG grave erosões	Positivo	Positivo	Íleo normal	Negativo	Negativo	CG
31	Col/ LP	Negativo	CG e LP discreta	Positivo	Positivo	Ent. granulomatosa discreta	Negativo	Negativo	CG
32	CG	Positivo	CG moderada	Positivo	Positivo	Íleo normal	Negativo	Negativo	CG
33	Col/ LP	Negativo	CG moderada/erosões	Positivo	Positivo	Íleo normal	Negativo	Negativo	CG
34	Col/ LP	Positivo	Col NEUT discreta	Negativo	Negativo	Ent. LP/NE discreta	Negativo	Negativo	Col NE

Legenda: ID= número de identificação do animal; ECC = Escore condição corporal; F = fêmea; M = macho; Sempre = manifestações clínicas iniciadas desde que tutores adquiriram animal; Ent = Enterite; Col = colite; IL= ileíte; CG = colite granulomatosa; NE = neutrofilica; LP= linfoplasmocítico; NI = ausência de infiltrado inflamatório; EOS = eosinofílico; X = ausência de dados; NR= não realizado

FONTE: Pereira, A.R.C. (2024).

Quadro 2: Média de idade dos animais e porcentagem de machos, fêmeas e alteração fecal dos animais, separados de acordo com seus diagnósticos finais, assim como valores finais de p, quando disponíveis.

Diagnóstico	Idade [mediana (range)]	Valor de p	Sexo		Valor de p	Fezes alteradas (%)**		Valor de p
			Macho (%)	Fêmea (%)		Diariamente	Intermitente	
Total	27,00	-	76,47	23,53	-	65,52	34,48	-
CG (n=13)	16,31	0,205*	76,92	23,08	>0,999‡	88,89	11,11	0,004‡
CNG (n=21)	33,62		76,19	23,81		28,57	71,43	
LP (n=4)	48,50		50,00	50,00		75,00	25,00	
NE(n=11)	29,27	-	90,91	9,09	-	50,00	50,00	-
NI (n=6)	33,67		66,67	33,33		50,00	50,00	

Legenda: CG = colite granulomatosa; CNG = Não colite granulomatosa; NE = neutrofílica; LP= linfoplasmocítico ; NI = ausência de infiltrado inflamatório ; valor de p obtido por teste *Mann-Whitney, ‡exato de Fischer; - = análise estatística inferencial não realizada;

** porcentagem calculada com base no n de animais com prontuários disponíveis (CG = 9; CNG = 20).

FONTE: Pereira, A.R.C. (2024).

Quadro 3 - Informações dos cães da raça buldogue francês com diarreia crônica e caracterização das manifestações clínicas de acordo com o diagnóstico das biopsias intestinais.

ID	Idade (meses)	Sexo	ECC	Idade início da diarreia (meses)	Êmese	Dor	Muco ou sangue nas fezes	Aumento da frequência defecação	Urgência para defecar	Frequência da diarreia	Diagnóstico final (íleo)	Diagnóstico final (cólon)
1	10	F	5	Sempre	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	Ent NE	CG
2	72	M	X	Sempre	Sim	Sim	Não	X	X	Intermitente	NI	NI
3	24	M	3	Sempre	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	Ent NE	CG
4	48	M	X	Sempre	Sim	Sim	Sim	X	X	X	Sem amostra	Col EOS/ NE
5	96	M	4	Sempre	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Intermitente	NI	CG
6	18	M	3	Sempre	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	EG	CG e LP
7	18	M	X	Sempre	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	Ent EOS/NE	Col LP
8	24	M	X	24	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	EG	CG
9	7	M	5	Sempre	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Diária	EG	CG
10	12	F	3	Sempre	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	Ent EOS/NE	NI
11	12	F	X	Sempre	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	NI	NI
12	12	M	4	Sempre	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Intermitente	Ent LP	NI
13	24	M	2	Sempre	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Intermitente	Ent EOS	NI
14	48	M	4	Sempre	Não	Não	Sim	Sim	X	Diária	Ent NE/ LP	CG
15	49	M	X	48	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	Ent NE	Col NE
16	38	F	2	36	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Diária	NI	Col LP
17	12	F	4	Sempre	Não	Sim	Sim	Não	Não	Diária	Ent NE	NI
18	7	M	X	Sempre	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	Ent LP	Col LP
19	21	F	5	Sempre	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Intermitente	NI	NI
20	84	M	4	72	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Intermitente	NI	Col EOS
21	24	M	5	Sempre	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	Sem amostra	NI
22	12	F	4	Sempre	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	NI	NI

23	12	M	4	Sempre	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	NI	CG
24	6	M	4	Sempre	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	NI	CG
25	48	M	5	47	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Intermitente	Sem amostra	CG
26	6	M	3	Sempre	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Intermitente	Ent NE	NI
27	65	M	X	48	Não	Não	Sim	Sim	Não	Intermitente	NI	NI
28	28	M	3	Sempre	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	Sem amostra	Col NE
29	24	F	4	Sempre	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Diária	NI	CG
30	7	M	X	X	X	X	X	X	X	X	Ent LP	Col NE
31	15	M	X	X	X	X	X	X	X	X	Ent EOS + nematódeos	Col EOS
32	8	M	X	X	X	X	X	X	X	X	NI	Col EOS/NE
33	12	M	X	X	X	X	X	X	X	X	NI	CG
34	15	M	X	X	X	X	X	X	X	X	NI	CG / LP

Legenda: ID= número de identificação do animal; ECC = Escore condição corporal; F = fêmea; M = macho; Sempre = manifestações clínicas iniciadas desde que tutores adquiriram animal; Ent = Enterite; Col = colite; IL= ileíte; CG = colite granulomatosa; NE = neutrofílica; LP= linfoplasmocítico; NI = ausência de infiltrado inflamatório; EOS = eosinofílico; X = ausência de dados; NR = não realizado; sens= sensível ; *E.coli* = *Escherichia coli*; Amoxi = Amoxicilina; Metro = metronidazol; s/n= sim ou não; EG = Enterite granulomatosa

FONTE: Pereira, A.R.C. (2024).

Quadro 4 - Dados de tratamento, desfecho e resultado de cultura de biopsia intestinal dos buldogues franceses de acordo com diagnóstico final.

ID	Antibiótico prévio a biópsia	Cultura e antibiograma	Diagnóstico final	Antibiótico pós biópsia	Tratamento pós - Prednisona	Tratamento pós - ciclosporina	Resposta ao tratamento
1	Sim	ECS	CG	Quinolona	Não	Não	RC
2	X	ECR	NI	X	Sim	Sim	RC
3	Sim	ECR	CG	Azitromicina	Não	Não	RP
4	X	ECR	Col EOS/NE	Azitromicina	Não	Não	RC
5	Sim	Não realizada	COL LP	Quinolona	Sim	Não	NR
6	Sim	ECR	CG	Quinolona	Não	Não	NR
7	Sim	ECS	CG	Quinolona	Não	Não	RP
8	Sim	Não realizada	Ent EOS/NE	X	Sim	Não	Não retornou
9	Sim	ECR	NI	Quinolona	Sim	Não	RC
10	Sim	ECR	Ent LP	Quinolona	Não	Não	NR
11	Sim	Não realizada	Ent EOS	X	Sim	Não	RP
12	Não	ECS	CG	Quinolona	Não	Não	RC
13	Não	ECR	Col NE	Amoxicilina	Sim	Sim	RP
14	Sim	ECR	Col LP	Quinolona	Sim	Sim	RC
15	Sim	ECS	Ent NE	X	Sim	Sim	RP
16	Sim	ECR	Col LP	Quinolona	Sim	Sim	RC
17	Sim	Não realizada	NI	X	Sim	Sim	Não retornou
18	Sim	ECS	Col EOS	X	Sim	Sim	RP
19	X	Não realizada	NI	X	Sim	Não	RC
20	Não	Não realizada	NI	X	Sim	Sim	RC
21	Sim	ECS	CG	Sulfa	Não	Não	RC
22	Sim	ECS	CG	Quinolona	Não	Não	RP
23	Sim	Não realizada	Ent NE	X	Sim	Não	RC

24	Sim	SIM	NI	Quinolona	Sim	Não	NR
25	Sim	Não realizada	Col NE	Quinolona	Sim	Não	NR
26	Sim	SIM	Col EOS	X	Não	Não	NÃO RETORNOU
27	Sim	Não realizada	Col EOS/ NE	X	Sim	Não	RC
28	Sim	Outras bact	CG	Amoxicilina	Sim	Não	RC
29	Sim	Outras bact	CG	Azitromicina	Sim	Não	RC

Legenda: ID= número de identificação do animal; Ent = Enterite; Col = colite; IL= ileíte; CG = colite granulomatosa; NE = neutrofílica; LP= linfoplasmocítico; NI = ausência de infiltrado inflamatório; EOS = eosinofílico; X = ausência de dados; NR = não realizado; *E.coli* = *Escherichia coli*; ECS = E. coli sensível a enrofloxacino; ECR = E.coli resistente a enrofloxacino; bact = bactérias

FONTE: Pereira, A.R.C. (2024).

6. DISCUSSÃO

No presente estudo os BF com diarreia crônica e CG apresentaram diarreia diária como manifestação clínica mais frequente. Nenhuma manifestação clínica permite a diferenciação entre CG e CNG em BF, mas diarreias de intestino grosso com manifestação diária podem ser mais sugestivas de CG nessa raça do que CNG.

A população de BF vem crescendo exponencialmente no mundo, sendo considerada a raça que mais cresce em número de indivíduos em alguns países, como no Reino Unido (NEILL *et al.*, 2018). Assim, doenças de alta predisposição na raça, com manifestações clínicas graves como as EC e, mais especificamente, a CG, se tornam cada vez mais frequentes.

Na literatura não foram encontrados estudos que compararam as características dos pacientes BF com versus sem colite granulomatosa. O número de animais avaliados nesses estudos variou de 29 a 34, sendo assim, apesar do caráter retrospectivo da pesquisa aqui em questão, similar a dos trabalhos já publicados, essa foi a que apresentou o maior n de BF, inclusive o maior de BF com CG.

A característica clínica dos pacientes deste estudo é similar a dos demais estudos com BF e CG. A idade média dos cães com CG (1,3 ano) foi semelhante ao encontrado por Manchester *et al.* (2021), a qual foi 1,2 ano. Já em uma série de cinco casos relatados de CG, a média de idade foi maior (2,3 anos) porém dois cães apresentavam idade menor que um ano, um tinha 2 anos, um com 3 anos e um com 5 anos, porém apresentava diarreia desde 2 anos (COCHRAN *et al.*, 2021). O mesmo ocorre na maioria dos casos relatados de CG em boxers, BF e outras raças, todos em animais jovens de até 5 anos de idade (INGRID VAN DER GAAG; JIK VAN TOORENBURG, 1978; MANCHESTER *et al.*, 2013a; TANAKA; NAKAYAMA; TAKASE, 2003).

Como entre os grupos CNG e CG não houve diferença na proporção sexual, pode-se inferir que não há predisposição sexual da CG em BF. O que se pode notar é que nos dois grupos havia mais machos do que fêmeas, o que levanta a hipótese de que machos da raça BF poderiam ser mais predispostos a quadros de diarreia crônica com característica de intestino grosso. Entretanto, no estudo de COCHRAN (2021), os cinco pacientes relatados com CG eram fêmeas. Já no estudo de Manchester *et al.*, sobre tratamento da CG de acordo com susceptibilidade a

antimicrobianos, no grupo de boxers com CG, a predisposição de machos (12 machos e oito fêmeas), enquanto entre os BF foi igual o número de machos e fêmeas (dois machos e duas fêmeas) (MANCHESTER *et al.*, 2021).

Dessa forma, sexo e idade não auxiliam no raciocínio diagnóstico nos quadros de diarreia crônica entre BF. Nesse estudo pode-se observar que diferenciar CG das CNG por meio das manifestações clínicas também é pouco provável, exceto pela diarreia de frequência diária, mais frequente nas CG do que as intermitentes, mais presentes nas CNG. A principal manifestação clínica do estudo, utilizada como critério de inclusão, foi a diarreia crônica de intestino grosso.

Dentre os 13 pacientes com CG, somente três animais apresentaram alteração histiocítica em íleo, concomitante ao cólon. Raramente são descritas as avaliações histopatológicas das amostras de íleo dos pacientes com CG na literatura, a grande maioria descrevendo somente os achados de cólon (CONRADO *et al.*, 2022; INGRID VAN DER GAAG; JIK VAN TOORENBURG, 1978; LUCENA; NOVALES; GINEL, 2017; TANAKA; NAKAYAMA; TAKASE, 2003). No entanto, dois outros estudos relataram a presença da ECEI no íleo, um com seis cães, da raça boxer (CASSMANN *et al.*, 2016) e outro com quatro boxers e um BF (COCHRAN *et al.*, 2021), todos concomitantes ao infiltrado histiocítico do cólon. No estudo de Cochran, a gravidade dos casos clínicos e a presença de infiltrado histiocítico em todos os animais não foi relacionada. Em nosso estudo, um dos pacientes não obtivemos acesso ao prontuário, os dois demais apresentaram recidiva após o tratamento e baixa resposta terapêutica referida no prontuário.

Ainda não é claro o porquê somente alguns pacientes apresentam infiltrado histiocítico no íleo. Alguns autores associam a CG à doença de Chron em humanos, onde a presença da ECEI no íleo de pacientes pediátricos pode ser um fator agravante da doença em adultos (PALMELA *et al.*, 2018). Em um estudo de 2011 foi demonstrado que as cepas da *E.coli* de boxers com CG são similares as encontradas no íleo de pacientes humanos com doença de Chron (MARTINEZ-MEDINA *et al.*, 2011). Sendo assim, considerando a causa da ileíte granulomatosa a ECEI, o envolvimento do íleo pode ser o sinal da evolução do quadro infeccioso, com progressão da ECEI. Porém mais estudos são necessários para elucidar o envolvimento do íleo em BF com CG e EG.

Para os quadros de EC, a mensuração da concentração sérica de folato e cobalamina é útil na determinação de prognóstico (HEILMANN; STEINER, 2018), porém não foram investigadas como possibilidade de auxílio no diagnóstico. Nas avaliações dos prontuários dos BF, como somente quatro cães apresentaram dosagem de cobalamina e folato, não foi possível investigar se seriam possíveis marcadores na diferenciação de CG dentre os quadros de diarreia crônica. A cobalamina é exclusivamente absorvida no íleo, por receptores locais que internalizam a junção cobalamina-fator intrínseco (HEILMANN; STEINER, 2018). Ela pode estar reduzida, dentre outras situações, em caso de alterações no trato gastrointestinal como EC, disbiose, e insuficiência pancreática exócrina, e sua redução sérica é considerada como fator prognóstico negativo em cães (HEILMANN; STEINER, 2018). No entanto, a normocobalaminemia não descarta diagnóstico de EC (HEILMANN; STEINER, 2018). Já o folato é absorvido no duodeno e jejuno proximal, por carreadores locais, e a inflamação nestes segmentos pode levar a redução sérica do folato (HEILMANN; STEINER, 2018).

Em um relato de cinco casos de CG, nenhum apresentou cobalamina ou folato fora do intervalo de referência, e todos os cinco casos apresentavam ileíte granulomatosa grave (COCHRAN *et al.*, 2021). Sendo assim, são necessários mais estudos, com maior número de animais com mensurações destes nutrientes, comparando CG e CNG, para avaliar se podem ser úteis como biomarcadores nos quadros de CG, talvez especificamente para mostrar comprometimento ileal.

Outra ferramenta utilizada na rotina clínica nos quadros de diarreia crônica é a ultrassonografia. Apesar de nas EC a ultrassonografia abdominal não ser determinante para o diagnóstico, e sua relevância ser questionável em cães com diarreia crônica (LEIB *et al.*, 2012), um estudo recente realizou avaliação ultrassonográfica contrastada de um paciente com CG, o qual apresentou espessamento grave de todo cólon, com perda de estratificação parietal discreta e mucosa hiperecogênica (CORDELLA *et al.*, 2021). Neste mesmo relato, também foram observados nódulos hipoecogênicos heterogêneos em toda mucosa colônica, provavelmente representando granulomas clássicos da CG, o que não havia sido descrito previamente pelo método de ultrassonografia tradicional. Sendo assim, possivelmente a ultrassonografia simples pode não ser um método de diagnóstico acurado nem determinante para diagnóstico da CG, mas, possivelmente, novos

estudos prospectivos com ultrassonografia contrastada podem auxiliar no diagnóstico final dos BF com diarreia crônica. No estudo em questão, nenhum paciente fora submetido a US contrastada pois esse não é um método comum na rotina clínica.

Além dos exames realizados previamente, foram avaliadas as medicações administradas anteriores à biópsia dos pacientes. Os antibióticos foram os mais administrados, com 23 dos 29 animais recebendo antibioticoterapia antes de realizar a coleta da biópsia. Os antibióticos são frequentemente prescritos para tratamento de diarreias agudas e crônicas, no entanto, seu uso tem sido fortemente desencorajado, não só por causarem resistência bacteriana em casos de suspeita de CG em boxers e BF, mas também em outras raças, por causarem disbiose, que pode persistir por semanas, levando a novos quadros de diarreia (GALLER *et al.*, 2022; SUCHODOLSKI, 2022). No presente estudo, apenas 10,3% dos buldogues franceses com diarreia crônica não passaram por antibioticoterapia prévia à biópsia. Os demais receberam de um a quatro antibióticos antes da coleta do histopatológico, o que pode reduzir a eficácia do diagnóstico histopatológico, por potencialmente reduzir a concentração bacteriana no cólon, nos casos de CG, e assim negatizar o exame destes animais, além de aumentar a resistência bacteriana nos positivos para CG, piorando o prognóstico destes pacientes.

Houve uma ampla variedade de classes de antibióticos administrados, dentre elas as quinolonas, administrada em 31% dos cães. Esta que é hoje a principal indicação de tratamento das CG (MANCHESTER *et al.*, 2013). A resistência a enrofloxacino é descrita em cães com CG desde 2009 (MACDONOUGH; SIMPSON, 2009; MANSFIELD *et al.*, 2009; CRAVEN *et al.*, 2010; MUELLER; OLIVRY; PRÉLAUD, 2016). Em estudo de 2010, foi evidenciado que 50% dos boxers com CG tinham resistência antibiótica a fluoroquinolonas. Nesse mesmo estudo, a resistência foi associada ao uso prévio de enrofloxacino em 10 dos 14 animais do estudo (CRAVEN *et al.*, 2010).

Já nas avaliações histológicas, muitas divergências entre as conclusões diagnósticas americanas e brasileiras foram notadas, com consequências importantes sob o protocolo terapêutico e prognóstico dos pacientes. Vale destacar que foi utilizado como padrão a diretriz consensual WSAVA (DAY *et al.*, 2008) e atualizações (ALLENSPACH *et al.*, 2019; JERGENS *et al.*, 2014). A variabilidade interobservadores

é amplamente descrita na medicina humana e veterinária, principalmente na área da oncologia (LALIBERTÉ *et al.*, 2022; REGAN *et al.*, 2015).

No estudo em questão, algumas possibilidades podem ser levantadas como causas da variabilidade interobservadores: 1- a coloração de PAS ter sido realizada em todas as amostras nos EUA bem como sua associação a IHQ. Antes de estar disponível a técnica de FISH ou IHQ, o PAS era a única técnica utilizada para diagnóstico dos cães com suspeita de CG (INGRID VAN DER GAAG; JIK VAN TOORENBURG, 1978; VAN KRUININGEN, 1975; VAN KRUININGEN *et al.*, 1965). No Brasil, esta técnica é, até hoje, a única forma de diagnóstico final para CG nos animais com esta suspeita diagnóstica. 2- Análises histológicas realizadas de acordo com consenso de avaliação histopatológica e sua atualização (WSAVA *et al.*, 2010; ALLENSPACH *et al.*, 2019), sem a certeza de isso ter sido realizado dessa forma pelos veterinários Brasileiros; 3- a experiência do patologista, que é confirmada pela certificação do *ACVP*, e a experiência em avaliação de análises de biópsias endoscópicas gastrointestinais, além da familiaridade com os consensos. Outro ponto, não descrito anteriormente na literatura, também devem ser considerado, o aprofundamento do corte histológico e a probabilidade maior ou menor de identificação de macrófagos PAS positivos. Os autores acreditam que em casos suspeitos em que as colorações sejam negativas, o mais indicado seja solicitar que cortes histológicos mais profundos na parafina sejam realizados, com objetivo de visualizar regiões mais profundas das vilosidades intestinais.

Além disso, alguns artefatos foram descritos como determinantes pelo patologista veterinário para descarte das amostras de pelo menos três BF, compulsório para reemblocar e refazer as lâminas de todos os pacientes para leitura: fragmentos de tecidos aglutinados na parafina, com artefato de coleta como esmagamento pela pinça, erros de identificação das amostras, número insuficiente de fragmentos por segmento e amostras superficiais. A realização do emblocamento dos fragmentos no padrão do laboratório GILAB não é descrito em nenhuma literatura, no entanto, parece facilitar a leitura da lâmina histológica em todas as colorações e poderia reduzir o risco de erros por melhorar a visualização individual dos fragmentos.

Muitos são os fatores que interferem no diagnóstico histológico dos BF, como o uso de antibióticos e cortisona prévios a biópsia, erros na coleta da biópsia endoscópica, erros no momento da realização dos blocos de parafina, das lâminas e

até mesmo na leitura das mesmas. Dentre as mudanças de diagnóstico histopatológico, houve cães em que não foi observado infiltrado inflamatório em quantidade suficiente na nova avaliação das biópsias para classificá-los como animais sob inflamação. Todos esses seis pacientes tiveram diagnóstico prévio de LP. Três cães receberam terapia imunomoduladora com prednisona ou outros imunossuppressores, associados a dieta hipoalergênica e/ou suplementação de fibra previamente à biópsia. A imunossupressão pode alterar o resultado minimizando o infiltrado inflamatório (ALLENSPACH *et al.*, 2007; ALLENSPACH; MOCHEL, 2022). Desses seis pacientes, quatro obtiveram resposta completa ao tratamento, o que levanta a hipótese de que eram pacientes com diarreia crônica idiopática de intestino grosso.

Diarreia idiopática de intestino grosso é caracterizada por manifestações gastrointestinais por mais de 3 semanas, sem uma causa definida, com mínimos achados na colonoscopia e sem marcadores de inflamação na avaliação histopatológica do cólon (LECOINDRE; GASCHEN, 2011; ROSSI *et al.*, 2020). Em um estudo com 37 cães com suspeita de síndrome do intestino irritável, todos responderam positivamente ao tratamento com dieta de alta digestibilidade e suplementação de psyllium, uma fonte de fibra solúvel (LEIB, 2000). Fibras solúveis tem alta capacidade de retenção hídrica e formam gel no cólon. A fermentação de fibras pelas bactérias pode melhorar o ambiente intestinal por produzir ácidos graxos de cadeia curta como butirato que é fonte de energia para os colonócitos (LEIB, 2000). Outros autores (ROSSI *et al.*, 2020) também relataram a mesma resposta terapêutica a fibras, e propuseram uma classificação de diarreia responsiva a fibra, a qual possivelmente dois dos pacientes relatados neste grupo de seis BF, sem infiltrado inflamatório, se enquadraram.

Outro manejo dietético em pacientes com diarreia crônica é a alimentação hipoalergênica, que é parte da triagem e do tratamento do paciente com enteropatia crônica, pois até 62% dos animais com manifestações clínicas de vômito e diarreia crônicos respondem a dieta hipoalergênica (BRESCIANI *et al.*, 2018; KAWANO *et al.*, 2016; PEREIRA, 2022; SICHERER; SAMPSON, 2010). No entanto, neste estudo, deve-se considerar um viés de seleção dos animais, pois foram selecionados cães com amostras de biópsia de cólon disponíveis. Ou seja, neste estudo, não é possível avaliar a resposta terapêutica dos cães BF a dieta hipoalergênica, visto que os animais

selecionados não responderam a dieta, ou responderam parcialmente, e por isso foram submetidos a biópsia.

Manejo dietético é de suma importância para tratamento dos cães com diarreia crônica, seja com dieta hipoalergênica ou dietas com fibras solúveis adicionadas a dietas de alta digestibilidade (ALVES; JORGE; SANTOS, 2022; FRITSCH *et al.*, 2022; LEIB, 2000; ROSSI *et al.*, 2020; SICHERER; SAMPSON, 2010; TOLBERT *et al.*, 2022). Pela natureza retrospectiva deste estudo não foi possível a prescrição da mesma dieta a todos os pacientes ou a padronização de sequência de investigação dietética: alimento hipoalergênico seguido do acréscimo de fibras. Em estudos prospectivos futuros, a eficácia da dieta hipoalergênica, seguida do aumento de fibra alimentar, para tratamento dos cães BF com diarreia crônica deveriam ser investigada pois na literatura há a suspeita de que os pacientes com diarreia crônica de intestino grosso, sem infiltrado inflamatório no intestino, podem ser os animais que responderiam especificamente ao aumento de fibra alimentar.

Sobre as culturas e antibiogramas, atualmente, a recomendação para pacientes com suspeita de CG é a realização da coleta de cultura e antibiograma de fragmento de íleo e cólon no momento do diagnóstico, durante a colonoscopia, além das amostras para histopatológico e IHQ, prévios a utilização de qualquer antibiótico, com objetivo de otimizar o diagnóstico e melhorar o prognóstico do paciente (CRAVEN *et al.*, 2010; LUCENA; NOVALES; GINEL, 2017; MANCHESTER *et al.*, 2021; MERINO-GUTIERREZ; PUIG; FEO-BERNABE, 2022) , como foi realizado em 58,8% dos cães do estudo. Dos 10 animais que obtiveram cultura resistente a enrofloxacino, somente três não haviam tomado nenhum antibiótico, no entanto nenhum dos pacientes apresentou infiltrado histiocítico. Um dos possíveis motivos para ocorrência de resistência a antibióticos é o uso prévio desses medicamentos.

Válido ressaltar que a espécie de *E.coli* detectada nas culturas não foi adequadamente identificada como ECEI por PCR (CONTE *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2019; MANCHESTER *et al.*, 2021), pois este exame não está disponível no Brasil e não é possível realizar a identificação do microrganismo em amostras já parafinadas. A identificação da ECEI muda o contexto da resistência bacteriana pois inutiliza as culturas bacterianas de *E. coli* que não forem positivas para ECEI, assim como o diagnóstico final do paciente, pois cães com CNG não serão tratados para *E. coli* positiva na cultura.

Os cães receberam corticoterapia e outros imunossupressores como ciclosporina, de acordo com resultado da biópsia obtida a época. Dentre CG e CNG, somente 48% responderam completamente ao tratamento proposto, e ainda assim, destes, somente oito não recidivaram as manifestações clínicas. A baixa resposta terapêutica dos BF com diarreia crônica associada a EC não é relatada na literatura. Mas sabe-se que o uso de medicações como antibioticoterapia empírica e corticoterapia prévios à biópsia reduzem a resposta terapêutica e o prognóstico dos animais (ALLENSPACH; CULVERWELL; CHAN, 2016). Entretanto, nos dados analisados dos BF incluídos no estudo pode-se observar que de todos os cães com CG que receberam medicação prévia, somente um não apresentou resposta ao tratamento instituídos após a biópsia e dois apresentaram resposta parcial.

Após o término do tratamento, embora não tenha uma indicação consensual, é indicada a repetição da colonoscopia, biópsia e cultura e antibiograma nos pacientes positivos para CG (COCHRAN et al., 2021; CONRADO et al., 2022; LUCENA; NOVALES; GINEL, 2017; MANCHESTER et al., 2013, 2021; SIMPSON et al., 2006). Assim, poderia -ser determinada a eliminação da ECEI na mucosa do cólon e/ou íleo antes de finalizar a antibioticoterapia (MANCHESTER et al., 2021). No entanto, é válido ressaltar que alguns autores acreditam que muitos animais permanecem positivos na coloração de PAS por meses, mesmo assintomáticos, e ainda não é claro o motivo (CRAVEN; MANSFIELD; SIMPSON, 2011). Em estudos prospectivos futuros, colonoscopias controle parecem ser indicadas para determinar a eliminação da ECEI e o término do tratamento da CG.

Nas avaliações histológicas, houve concordância em 92,8% das amostras positivas em IHQ e PAS de cólon, sendo somente um paciente negativo em PAS com IHQ positiva. Tal fato possivelmente ocorreu devido erosão epitelial visualizada no histopatológico, e invasão de bactérias *E.coli*, positivando a IHQ. Neste paciente não foi possível identificar alteração histiocítica no histopatológico, descaracterizando-o como CG. A IHQ é uma técnica altamente sensível a presença da *E.coli*, no entanto não é específica para o diagnóstico da CG (ISHII et al., 2022). Sendo assim, sugere-se que o diagnóstico final de CG seja realizado com associação da avaliação do PAS e IHQ, com caracterização do tecido pela avaliação histopatológica.

O caráter retrospectivo desse estudo gera diversas limitações, como a ausência de dados nos prontuários necessária para o cálculo do índice de atividade

das enteropatias (CCECAI). O CCECAI é um escore clínico que envolve os parâmetros frequência dos episódios de diarreia, perda de peso, atividade do paciente, apetite, frequência de êmese, prurido, ascite, albumina sérica e consistência fecal. É importante para determinar a gravidade do quadro no momento do atendimento e a evolução do paciente frente à terapêutica e o prognóstico do paciente com EC (ALLENSPACH *et al.*, 2007). Outros dados como escore fecal, índice de disbiose, cobalamina e folato, e cortisol basal também não estavam disponíveis em todos os prontuários dos pacientes. A falta de padronização dos tratamentos e das avaliações clínicas também é fator limitante para análise dos dados.

Além disso, o baixo número de animais limitou a melhor análise dos dados. No entanto, os estudos publicados a respeito de CG em BF estão limitados a relatos de caso de um animal (CONRADO *et al.*, 2022; CORDELLA *et al.*, 2021; INGRID VAN DER GAAG; JIK VAN TOORENBURG, 1978; MERINO-GUTIERREZ; PUIG; FEO-BERNABE, 2022; TANAKA; NAKAYAMA; TAKASE, 2003), séries de casos de dois (LUCENA; NOVALES; GINEL, 2017), seis (MANCHESTER *et al.*, 2013), e 11 animais, sendo 9 BF e 2 dois boxers (NOLTE *et al.*, 2017). Sendo assim, ao todo, na literatura foram encontrados apenas 23 casos de BF relatados em diferentes estudos. Dessa forma, com 13 BF com CG e 21 sem CG, apesar das limitações, este é o estudo com mais dados sobre EC especificamente na raça, com análises comparativas.

7. CONCLUSÕES

Com base no levantamento de dados retrospectivo aqui realizado, pode-se concluir que nenhuma manifestação clínica permite a diferenciação entre CG e CNG em BF, mas diarreias de intestino grosso com manifestação diária podem ser mais sugestivas de CG nessa raça do que CNG. Para diagnóstico das CG em BF são necessárias biópsias de cólon, com a associação dos achados de coloração de HE, PAS e IHQ.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ABDELHALIM, K. A.; UZEL, A.; GÜLŞEN ÜNAL, N. Virulence determinants and genetic diversity of adherent-invasive Escherichia coli (AIEC) strains isolated from patients with Crohn's disease. **Microbial Pathogenesis**, v. 145, n. April, 2020.
- AFSHAR, P.; REDFIELD, D. C.; HIGGINBOTTOM, P. A. Whipple's Disease: A Rare Disease Revisited. **Curr Gastroenterol Rep**, v. 12, p. 263–269, 2010.
- ALAMMAR, N.; STEIN, E. Irritable Bowel Syndrome: What Treatments Really Work. **Medical Clinics of North America**, v. 103, n. 1, p. 137–152, 1 jan. 2019.
- ALLENSPACH, K. Clinical Immunology and Immunopathology of the Canine and Feline Intestine. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 41, n. 2, p. 345–360, mar. 2011.
- ALLENSPACH, K. Diagnosis of Small Intestinal Disorders in Dogs and Cats. **clin lab med**, v. 35, n. January, p. 521–534, 2015.
- ALLENSPACH, K. A.; MOCHEL, J. P.; DU, Y.; PRIESTNALL, S. L.; MOORE, F.; SLAYTER, M.; RODRIGUES, A.; ACKERMANN, M.; KROCKENBERGER, M.; MANSELL, J.; LUCKSCHANDER, N.; WANG, C.; SUCHODOLSKI, J.; BERGHOFF, N.; JERGENS, A. E. Correlating Gastrointestinal Histopathologic Changes to Clinical Disease Activity in Dogs With Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. **Veterinary Pathology**, v. 56, n. 3, p. 435–443, 2019.
- ALLENSPACH, K.; CULVERWELL, C.; CHAN, D. Long-term outcome in dogs with chronic enteropathies: 203 cases. **Veterinary Record**, v. 178, n. 15, p. 368, 9 abr. 2016.
- ALLENSPACH, K.; MOCHEL, J. P. **Current diagnostics for chronic enteropathies in dogs** *Veterinary Clinical Pathology* American Society for Veterinary Clinical Pathology, 1 fev. 2022.
- ALLENSPACH, K.; WIELAND, B.; GRÖNE, A.; GASCHEN, F.; GRÖNE, A.; GASCHEN, F. Chronic enteropathies in dogs: Evaluation of risk factors for negative outcome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 4, p. 700–708, 2007.
- ALVES, J. C.; JORGE, P.; SANTOS, A. The effect of photobiomodulation therapy on the management of chronic idiopathic large-bowel diarrhea in dogs. **Lasers in Medical Science**, v. 37, n. 3, p. 2045–2051, 1 abr. 2022.
- ARGENTA, F. F.; DE SOUZA, S. O.; MEIRELLES, L. S.; SNEL, G. G. M.; DE LORENZO, C.; IENES-LIMA, J.; HORN, F.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S. P. Histiocytic Ulcerative Colitis in an American Staffordshire Terrier. **Journal of Comparative Pathology**, v. 165, p. 40–44, 2018.
- BARNICH, N.; DARFEUILLE-MICHAUD, A. Adherent-invasive Escherichia coli and Crohn's disease. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 23, p. 16–20, 2007a. Disponível em: <<http://journals.lww.com/co-gastroenterology>>.
- BARNICH, N.; DARFEUILLE-MICHAUD, A. Adherent-invasive Escherichia coli and Crohn's disease. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 23, n. 23, p. 16–20, 2007b.
- BERRYESSA, N. A.; MARKS, S. L.; PESAVENTO, P. A.; KRASNANSKY, T.; YOSHIMOTO, S. K.; JOHNSON, E. G.; GROOTERS, A. M. Gastrointestinal pythiosis in 10 dogs from California. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 4, p. 1065–1069, jul. 2008.
- BOUMAZA, A.; BEN AZZOUZ, E.; ARRINDELL, J.; LEPIDI, H.; MEZOUAR, S.; DESNUES, B. Whipple's disease and Tropheryma whipplei infections: from bench to bedside. **The Lancet Infectious Diseases**, out. 2022.
- BRESCIANI, F.; MINAMOTO, Y.; SUCHODOLSKI, J. S.; GALIAZZO, G.; VECCHIATO, C. G.; PINNA, C.; BIAGI, G.; PIETRA, M.; KAWANO, K.; SHIMAKURA, H.; NAGATA, N.; MASASHI, Y.; SUTO, A.; SUTO, Y.; UTO, S.; UENO, H.; HASEGAWA, T.; USHIGUSA, T.; NAGAI, T.; ARAWATARI, Y.; MIYAJI, K.; OHMORI, K.; MIZUNO, T.; BRESCIANI, F.; MINAMOTO, Y.; SUCHODOLSKI, J. S.; GALIAZZO, G.; VECCHIATO, C. G.; PINNA, C.; BIAGI, G.; PIETRA, M.; ALLENSPACH, K. Effect of an extruded animal protein-free diet on

- fecal microbiota of dogs with food-responsive enteropathy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 1903–1910, 2018.
- CARVALLO, F. R.; KERLIN, R.; FREDETTE, C.; PISHARATH, H.; DEBROY, C.; KARIYAWASAM, S.; PARDO, I. D. Histiocytic typhlocolitis in two colony Beagle dogs. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 67, n. 2, p. 219–221, 1 fev. 2015.
- CASSMANN, E.; WHITE, R.; ATHERLY, T.; WANG, C.; SUN, Y.; KHODA, S.; MOSHER, C.; ACKERMANN, M.; JERGENS, A. Alterations of the Ileal and Colonic Mucosal Microbiota in Canine Chronic Enteropathies. **PLoS ONE**, v. 11, n. 2, 1 fev. 2016.
- CHURCHER, R. K.; WATSON, A. Canine histiocytic ulcerative colitis. **Aust Vet J**, v. 75, n. 10, p. 710, 1997.
- COCHRAN, L.; HILL, S.; LOTTI, U.; ALLENSPACH, K.; PALMA, D.; FORMAN, M.; GARY, A. T.; DOGAN, B.; MCDONOUGH, S. P.; SIMPSON, K. W. Clinical characteristics and long-term outcome of E. coli-associated granulomatous ileocolitis in dogs: five cases (2010-2014). **Journal of Small Animal Practice**, v. 62, n. 7, p. 588–598, 1 jul. 2021.
- CONRADO, F. O.; JONES, E. A.; GRAHAM, E. A.; SIMPSON, K. W.; CRAFT, W. F.; BEATTY, S. S. K. Cytologic, histopathologic, and clinical features of granulomatous colitis in a French Bulldog. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 50, n. S1, p. 76–82, 2022.
- CONTE, M. P.; LONGHI, C.; MARAZZATO, M.; CONTE, A. L.; ALEANDRI, M.; LEPANTO, M. S.; ZAGAGLIA, C.; NICOLETTI, M.; ALOI, M.; TOTINO, V.; PALAMARA, A. T.; SCHIPPA, S. Adherent-invasive Escherichia coli (AIEC) in pediatric Crohn's disease patients: Phenotypic and genetic pathogenic features. **BMC Research Notes**, v. 7, n. 1, p. 1–12, 2014.
- CONTE, M. P.; SCHIPPA, S.; ZAMBONI, I.; PENTA, M.; CHIARINI, F.; SEGANTI, L.; OSBORN, J.; FALCONIERI, P.; BORRELLI, O.; CUCCHIARA, S. Gut-associated bacterial microbiota in paediatric patients with inflammatory bowel disease. **Gut**, v. 55, n. 12, p. 1760–1767, dez. 2006.
- CORDELLA, A.; STOCK, E.; VAN DE MAELE, I.; WILLEMS, A.; SAUNDERS, J. Use of contrast-enhanced ultrasonography and shear-wave elastography in the diagnosis of granulomatous colitis in a french bulldog. **Veterinary Sciences**, v. 8, n. 7, 2021.
- CRAVEN, M.; DOGAN, B.; SCHUKKEN, A.; VOLKMAN, M.; CHANDLER, A.; MCDONOUGH, P. L.; SIMPSON, K. W. Antimicrobial Resistance Impacts Clinical Outcome of Granulomatous Colitis in Boxer Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 819–824, 2010.
- CRAVEN, M.; MANSFIELD, C. S.; SIMPSON, K. W. Granulomatous Colitis of Boxer Dogs. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 41, n. 2, p. 433–445, 2011a.
- CRAVEN, M.; MANSFIELD, C. S.; SIMPSON, K. W. Granulomatous Colitis of Boxer Dogs. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 41, n. 2, p. 433–445, 2011b.
- DANDRIEUX, J. R. S. **Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same?** **Journal of Small Animal Practice** Blackwell Publishing Ltd, 1 nov. 2016.
- DANDRIEUX, J. R. S.; MANSFIELD, C. S. <p>Chronic Enteropathy In Canines: Prevalence, Impact And Management Strategies</p>. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, v. Volume 10, p. 203–214, dez. 2019.
- DAY, M. J.; BILZER, T.; MANSELL, J.; WILCOCK, B.; HALL, E. J.; JERGENS, A.; MINAMI, T.; WILLARD, M.; WASHABAU, R. Histopathological Standards for the Diagnosis of Gastrointestinal Inflammation in Endoscopic Biopsy Samples from the Dog and Cat: A Report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. **Journal of Comparative Pathology**, v. 138, n. SUPPL. 1, p. 1–43, fev. 2008.
- DOGAN, B.; ZHANG, S.; KALLA, S. E.; DOGAN, E. I.; GUO, C.; ANG, C. R.; SIMPSON, K. W. Molecular and phenotypic characterization of escherichia coli associated with granulomatous colitis of boxer dogs. **Antibiotics**, v. 9, n. 9, p. 1–16, 2020a.

- DOGAN, B.; ZHANG, S.; KALLA, S. E.; DOGAN, E. I.; GUO, C.; ANG, C. R.; SIMPSON, K. W. Molecular and phenotypic characterization of escherichia coli associated with granulomatous colitis of boxer dogs. **Antibiotics**, v. 9, n. 9, p. 1–16, 2020b.
- DOLMANS, R. A. V.; EDWIN BOEL, C. H.; LACLE, M. M.; KUSTERS, J. G. **Clinical manifestations, treatment, and diagnosis of Tropheryma whipplei infections** **Clinical Microbiology Reviews** American Society for Microbiology, 1 abr. 2017.
- FELDMAN, A. T.; WOLFE, D. Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. **Methods in Molecular Biology**, v. 1180, p. 31–43, 2014.
- FIX, A. Genetic Structure of the Pure bred Domestic Dog. **Current Developments in Anthropological Genetics**, v. 304, n. May, p. 179–204, 1982.
- FRITSCH, D. A.; WERNIMONT, S. M.; JACKSON, M. I.; MACLEAY, J. M.; GROSS, K. L. A prospective multicenter study of the efficacy of a fiber-supplemented dietary intervention in dogs with chronic large bowel diarrhea. **BMC Veterinary Research**, v. 18, n. 1, 1 dez. 2022.
- GALLEGO, A. F.; GOW, A. G.; BOAG, A. M. Evaluation of resting cortisol concentration testing in dogs with chronic gastrointestinal signs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 36, n. 2, p. 525–531, 1 mar. 2022.
- GALLER, A. I.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEINER, J. M.; SUNG, C. H.; HITTMAIR, K. M.; RICHTER, B.; BURGNER, I. A. Microbial dysbiosis and fecal metabolomic perturbations in Yorkshire Terriers with chronic enteropathy. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 1 dez. 2022.
- GIARDINO, L.; GENERALI, L.; DEL FABBRO, M.; TARTAGLIA, G. M.; BIDOSSI, A.; SAVADORI, P. Detection of bacteria in dental samples using the Periodic acid-Schiff (PAS) histological stain. **Micron**, v. 172, n. 103498, p. 1–8, 1 set. 2023.
- GOMEZ, J. A.; RUSSELL, S. W.; TROWBRIDGE, J. O.; LEE, J. Canine histiocytic ulcerative colitis - An ultrastructural study of the early mucosal lesion. **The American Journal of Digestive Diseases**, v. 22, n. 6, p. 485–496, 1977.
- HALL EJ; GERMAN AJ. Diseases of the small intestine. *Em*: ETTINGER S.J.; FELDMAN E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 7th. ed. [s.l: s.n.]p. 1333–1378.
- HAUCK, C.; SCHMITZ, S. S.; BURGNER, I. A.; WEHNER, A.; NEIGER, R.; KOHN, B.; RIEKER, T.; REESE, S.; UNTERER, S. Prevalence and characterization of hypoadrenocorticism in dogs with signs of chronic gastrointestinal disease: A multicenter study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 4, p. 1399–1405, 1 jul. 2020.
- HAYWARD, J. J.; CASTELHANO, M. G.; OLIVEIRA, K. C.; COREY, E.; BALKMAN, C.; BAXTER, T. L.; CASAL, M. L.; CENTER, S. A.; FANG, M.; GARRISON, S. J.; KALLA, S. E.; KORNILIEV, P.; KOTLIKOFF, M. I.; MOISE, N. S.; SHANNON, L. M.; SIMPSON, K. W.; SUTTER, N. B.; TODHUNTER, R. J.; BOYKO, A. R. Complex disease and phenotype mapping in the domestic dog. **Nature Communications**, v. 7, p. 1–11, 2016.
- HEILMANN, R. M.; STEINER, J. M. **Clinical utility of currently available biomarkers in inflammatory enteropathies of dogs** **Journal of Veterinary Internal Medicine** Blackwell Publishing Inc., 1 set. 2018.
- HOSTUTLER, R. A.; LURIA, B. J.; JOHNSON, S. E.; WEISBRODE, S. E.; SHERDING, R. G.; JAEGER, J. Q.; GUILFORD, W. G. Antibiotic-responsive histiocytic ulcerative colitis in 9 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, n. 4, p. 499–504, 2004.
- INGRID VAN DER GAAG; JIK VAN TOORENBURG. Histiocytic ulcerative colitis in a French Bulldog. **Journal Small Animal Practice**, v. 19, n. 1978, p. 283–290, 1978.
- IRIS**. . [s.l: s.n.].
- ISHII, P. E.; SUCHODOLSKI, J. S.; DUARTE, R.; PEREIRA, A. R. C.; LIDBURY, J. A.; STEINER, J. M.; GIARETTA, P. R. **Detection of invasive Escherichia coli in dogs with granulomatous colitis using immunohistochemistry** **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. [s.l.] SAGE Publications Inc., 2022. .
- JERGENS, A. E.; EVANS, R. B.; ACKERMANN, M.; HOSTETTER, J.; WILLARD, M.; MANSELL, J.; BILZER, T.; WILCOCK, B.; WASHABAU, R.; HALL, E. J.; MINAMI, T.; WANG, C.; DAY, M. J. Design of a Simplified Histopathologic Model for Gastrointestinal Inflammation in Dogs. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 5, p. 946–950, 2014.

- JERGENS, A. E.; SCHREINER, A.; FRANK, D. E.; NIYO, Y.; AHRENS, F. E.; ECKERSALL, P. D.; BENSON, T. J.; EVANS, R. A Scoring Index for Disease Activity in Canine Inflammatory Bowel Disease. **J Vet Intern Med**, v. 17, p. 291–297, 2003.
- JULIEN R. S. DANDRIEUX; PETER-JOHN M. NOBLE; TIMOTHY J. SCASE; PETER J. CRIPPS; ALEXANDER J. GERMAN. Comparison of a chlorambucil-prednisolone combination with an azathioprine-prednisolone combination for treatment of chronic enteropathy with concurrent protein-losing enteropathy in dogs- 27 cases (2007–2010). **JAVMA**, v. 242, n. 12, p. 1705–1714, 2013.
- KAWANO, K.; SHIMAKURA, H.; NAGATA, N.; MASASHI, Y.; SUTO, A.; SUTO, Y.; UTO, S.; UENO, H.; HASEGAWA, T.; USHIGUSA, T.; NAGAI, T.; ARAWATARI, Y.; MIYAJI, K.; OHMORI, K.; MIZUNO, T. Prevalence of food-responsive enteropathy among dogs with chronic enteropathy in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 78, n. 8, p. 1377–1380, 2016.
- KHAVARI, P. A.; BOLOGNIA, J. L.; EISEN, R.; EDBERG, S. C.; GRIMSHAW, S. C.; SHAPIRO, P. E.; MARY CUTANEOUS BACILLUS CEREUS, P.; MEDICINE EDBERG, L.; OGY, P. **Periodic Acid-Schiff-Positive Organisms in Primary Cutaneous Bacillus cereus Infection Case Report and an Investigation of the Periodic Acid-Schiff Staining Properties of Bacteria From the Departments of Dermatology (Drs Khavari, Bologna, and Shapiro) Reprint requests to Department of Dermatology, 500 LCI.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://archderm.jamanetwork.com/>>.
- KUTLU, O.; ERHAN, S. Ş.; GÖKDEN, Y.; KANDEMİR, Ö.; TÜKEK, T. Whipple's Disease: A Case Report. **Medical Principles and Practice**, v. 29, n. 1, p. 90–93, 1 jan. 2020.
- LALIBERTÉ, S. M.; POIRIER, V. J.; PINARD, C. J.; HOCKER, S. E.; FOSTER, R. A. A retrospective comparison of first and second opinion histopathology with patient outcomes in veterinary oncology cases (2011–2019). **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 20, n. 1, p. 198–206, 1 mar. 2022.
- LEAL, R. O.; SIMPSON, K.; FINE, M.; HUSSON, J. C.; HERNANDEZ, J. Granulomatous colitis: more than a canine disease? A case of Escherichia coli-associated granulomatous colitis in an adult cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 3, n. 2, 1 jul. 2017.
- LECHOWSKI, R.; COTARD, J. P.; BOULOUIS, H. J.; KIETZMAN, M.; FARCA, A. M.; FONTAINE, J.; CANEY, S.; DUPREE, G. Proper use of Quinolones for canine colitis ambulatory treatment: Literature review and REQUEST guidelines. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 16, n. 1, p. 193–197, 2013.
- LECOINDRE, P.; GASCHEN, F. P. **Chronic Idiopathic Large Bowel Diarrhea in the Dog** **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice** mar. 2011.
- LEE, J. G.; HAN, D. S.; JO, S. V.; REUM LEE, A.; PARK, C. H.; EUN, C. S.; LEE, Y. Characteristics and pathogenic role of adherent-invasive Escherichia coli in inflammatory bowel disease: Potential impact on clinical outcomes. **PLoS ONE**, v. 14, n. 4, 1 abr. 2019.
- LEIB, M. S. Treatment of chronic idiopathic large-bowel diarrhea in dogs with a highly digestible diet and soluble fiber: a retrospective review of 37 cases. **Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 1, p. 27–32, 2000.
- LEIB, M. S.; LARSON, M. M.; GRANT, D. C.; MONROE, W. E.; TROY, G. C.; PANCIERA, D. L.; ROSSMEISL, J. H.; WERRE, S. R. Diagnostic Utility of Abdominal Ultrasonography in Dogs with Chronic Diarrhea. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 6, p. 1288–1294, nov. 2012.
- LOIS ROTH; AMELIA M. WALTON; MICHAEL S. LEIB; COLIN F. BURROWS. A grading system for lymphocytic plasmacytic colitis in dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 2, p. 257–262, 1990.
- LUCENA, R.; NOVALES, M.; GINEL, P. J. Granulomatous colitis in two French bulldogs unresponsive to fluoroquinolone antimicrobials: A case report. **Veterinarni Medicina**, v. 62, n. 5, p. 292–294, 2017.

- MACDONOUGH, S. P.; SIMPSON, K. W. Remission of Histiocytic Ulcerative Colitis in Boxer Dogs Correlates with Eradication of Invasive Intramucosal Escherichia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, p. 964–969, 2009.
- MAGAKI, S.; HOJAT, S. A.; WEI, B.; SO, A.; YONG, W. H. An introduction to the performance of immunohistochemistry. *Em: Methods in Molecular Biology*. [s.l.] Humana Press Inc., 2019. p. 289–298.
- MAKIELSKI, K.; CULLEN, J.; O'CONNOR, A.; JERGENS, A. E. **Narrative review of therapies for chronic enteropathies in dogs and cats** **Journal of Veterinary Internal Medicine** Blackwell Publishing Inc., 1 jan. 2019.
- MANCHESTER, A. C.; DOGAN, B.; GUO, Y.; SIMPSON, K. W. Escherichia coli-associated granulomatous colitis in dogs treated according to antimicrobial susceptibility profiling. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 1, p. 150–161, 2021.
- MANCHESTER, A. C.; HILL, S.; SABATINO, B.; ARMENTANO, R.; CARROLL, M.; KESSLER, B.; MILLER, M.; DOGAN, B.; MCDONOUGH, S. P.; SIMPSON, K. W. Association between Granulomatous Colitis in French Bulldogs and Invasive Escherichia coli and Response to Fluoroquinolone Antimicrobials. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 1, p. 56–61, 2013a.
- MANCHESTER, A. C.; HILL, S.; SABATINO, B.; ARMENTANO, R.; CARROLL, M.; KESSLER, B.; MILLER, M.; DOGAN, B.; MCDONOUGH, S. P.; SIMPSON, K. W. Association between Granulomatous Colitis in French Bulldogs and Invasive Escherichia coli and Response to Fluoroquinolone Antimicrobials. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 1, p. 56–61, 2013b.
- MANDIGERS, P. J. J.; BIOURGE, V.; VAN DEN INGH, T. S. G. A. M.; ANKRINGA, N.; GERMAN, A. J. A Randomized, Open-Label, Positively-Controlled Field Trial of a Hydrolyzed Protein Diet in Dogs with Chronic Small Bowel Enteropathy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 6, p. 1350–1357, nov. 2010. . Acesso em: 29 jan. 2022.
- MANSFIELD, C. S.; JAMES, F. E.; CRAVEN, M.; DAVIES, D. R.; O'HARA, A. J.; NICHOLLS, P. K.; DOGAN, B.; MACDONOUGH, S. P.; SIMPSON, K. W. Remission of histiocytic ulcerative colitis in boxer dogs correlates with eradication of invasive intramucosal Escherichia coli. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 5, p. 964–969, set. 2009.
- MARTH, T.; MOOS, V.; MÜLLER, C.; BIAGI, F.; SCHNEIDER, T. Tropheryma whipplei infection and Whipple's disease. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 3, p. e13–e22, 1 mar. 2016.
- MARTINEZ-MEDINA, M.; GARCIA-GIL, J.; BARNICH, N.; WIELER, L. H.; EWERS, C. Adherent-invasive Escherichia coli phenotype displayed by intestinal pathogenic E. coli strains from cats, dogs, and swine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 16, p. 5813–5817, ago. 2011.
- MATSUMOTO, I.; NAKASHIMA, K.; MORITA, H.; KASAHARA, K.; KATAOKA, O.; UCHIDA, K. Escherichia coli-induced granulomatous colitis in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 5, n. 1, 2019.
- MERINO-GUTIERREZ, V.; PUIG, J.; FEO-BERNABE, L. Successful Treatment of 3 Dogs With Fluoroquinolone-Resistant Escherichia coli Associated Granulomatous Colitis. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 47, 1 mar. 2022.
- MUELLER, R. S.; OLIVRY, T.; PRÉLAUD, P. Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (2): Common food allergen sources in dogs and cats. **BMC Veterinary Research**, v. 12, n. 1, 12 jan. 2016.
- NEILL, D. G. O.; BARAL, L.; CHURCH, D. B.; BRODBELT, D. C.; PACKER, R. M. A. Demography and disorders of the French Bulldog population under primary veterinary care in the UK in 2013. p. 1–12, 2018.
- NOLTE, A.; JUNGINGER, J.; BAUM, B.; HEWICKER-TRAUTWEIN, M. Heterogeneity of macrophages in canine histiocytic ulcerative colitis. **Innate Immunity**, v. 23, n. 3, p. 228–239, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1753425916686170>>.

- PALMELA, C.; CHEVARIN, C.; XU, Z.; TORRES, J.; SEVRIN, G.; HIRTEN, R.; BARNICH, N.; NG, S. C.; COLOMBEL, J. F. Adherent-invasive *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease. **Gut**, v. 67, n. 3, p. 574–587, 2018.
- PARAMBETH, J. C.; LAWHON, S. D.; MANSELL, J.; WU, J.; CLARK, S. D.; SUTTON, D.; GIBAS, C.; WIEDERHOLD, N. P.; MYERS, A. N.; JOHNSON, M. C.; LEVINE, G. J.; SCHLEMMER, S.; RUOFF, C.; ISAIAH, A.; CREEVY, K. E. Gastrointestinal pythiosis with concurrent presumptive gastrointestinal basidiobolomycosis in a Boxer dog. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 48, n. 1, p. 83–88, 1 mar. 2019.
- PARKER, H. G.; DREGER, D. L.; RIMBAULT, M.; DAVIS, B. W.; MULLEN, A. B.; CARPINTERO-RAMIREZ, G.; OSTRANDER, E. A. Genomic Analyses Reveal the Influence of Geographic Origin, Migration, and Hybridization on Modern Dog Breed Development. **Cell Reports**, v. 19, n. 4, p. 697–708, 25 abr. 2017.
- PAVARINI, S. P.; GOMES, D. C.; BANDINELLI, M. B.; DE OLIVEIRA, E. C.; BANDARRA, P. M.; DA CRUZ, C. E. F.; DRIEMEIER, D. Colite histiocítica ulcerativa em um cão Boxer no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 3, p. 986, 2011.
- PEREIRA, A. R. C. 2022 ACVIM Forum Research Abstract Program. Em: Food-responsive Enteropathy Occurrence in Dogs with Chronic Enteropathy in São Paulo-Brazil, 2022, [...]. 2022. p. 11.
- PRUDENT, E.; RAOULT, D. **Fluorescence in situ hybridization, a complementary molecular tool for the clinical diagnosis of infectious diseases by intracellular and fastidious bacteria** *FEMS Microbiology Reviews* Oxford University Press, 1 jan. 2019.
- RECAI TUNCA; GÜVENÇ, T.; HAZIROĞLU, R.; ATASEVEN, L.; ÖZEN, H.; TOPLU, N. Pathological and Immunohistochemical Investigation of Naturally Occurring Systemic *Candida albicans* Infection in Dogs. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, v. 30, n. 6, p. 545–551, 2006.
- REGAN, R. C.; RASSNICK, K. M.; MALONE, E. K.; MCDONOUGH, S. P. A prospective evaluation of the impact of second-opinion histopathology on diagnostic testing, cost and treatment in dogs and cats with cancer. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 13, n. 2, p. 106–116, 1 jun. 2015.
- ROSSI, G.; CERQUETELLA, M.; GAVAZZA, A.; GALOSI, L.; BERARDI, S.; MANGIATERRA, S.; MARI, S.; SUCHODOLSKI, J. S.; LIDBURY, J. A.; STEINER, J. M.; PENGO, G. Rapid resolution of large bowel diarrhea after the administration of a combination of a high-fiber diet and a probiotic mixture in 30 dogs. **Veterinary Sciences**, v. 7, n. 1, 1 mar. 2020.
- SAHA, L. Irritable bowel syndrome: Pathogenesis, diagnosis, treatment, and evidence-based medicine. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 22, p. 6759–6773, 2014.
- SALAVATI SCHMITZ, S.; GOW, A.; BOMMER, N.; MORRISON, L.; MELLANBY, R. Diagnostic features, treatment, and outcome of dogs with inflammatory protein-losing enteropathy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 5, p. 2005–2013, 1 set. 2019.
- SICHERER, S. H.; SAMPSON, H. A. Food allergy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 125, n. 2 SUPPL. 2, fev. 2010. . Acesso em: 29 jan. 2022.
- SIMPSON, K. W.; DOGAN, B.; RISHNIW, M.; GOLDSTEIN, R. E.; KLAESSIG, S.; MCDONOUGH, P. L.; GERMAN, A. J.; YATES, R. M.; RUSSELL, D. G.; JOHNSON, S. E.; BERG, D. E.; HAREL, J.; BRUANT, G.; MCDONOUGH, S. P.; SCHUKKEN, Y. H. Adherent and invasive *Escherichia coli* is associated with granulomatous colitis in Boxer dogs. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 8, p. 4778–4792, 2006.
- STOKES, J. E.; KRUGER, J. M.; MULLANEY, T.; HOLAN, K.; SCHALL, W. Histiocytic Ulcerative Colitis in Three Non-Boxer Dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 37, n. 5, p. 461–465, 2001.
- SUCHODOLSKI, J. S. **Analysis of the gut microbiome in dogs and cats** *Veterinary Clinical Pathology* American Society for Veterinary Clinical Pathology, 1 fev. 2022.
- TANAKA, H.; NAKAYAMA, M.; TAKASE, K. Histiocytic ulcerative colitis in a French bulldog. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 65, n. 3, p. 431–433, 2003.

- TOLBERT, M. K.; MURPHY, M.; GAYLORD, L.; WITZEL-ROLLINS, A. **Dietary management of chronic enteropathy in dogs** *Journal of Small Animal Practice* John Wiley and Sons Inc, 2022.
- VAN KRUININGEN, H. J. The ultrastructure of macrophages in granulomatous colitis of boxer dogs. **Veterinary Pathology**, v. 12, n. 5–6, p. 446–459, 1975.
- VAN KRUININGEN, H. J.; CIVCO, I. C.; CARTUN, R. W. The comparative importance of E. coli antigen in granulomatous colitis of Boxer dogs. **Apmis**, v. 113, n. 6, p. 420–425, 2005.
- VAN KRUININGEN, H. J.; MONTALI, R. J.; STRANDBERG, J. D.; KIRK, R. W. A Granulomatous Colitis of Dogs with Histologic Resemblance to Whipple's Disease. **Veterinary Pathology**, v. 2, n. 6, p. 521–544, 1965.
- VERLINDEN, A.; HESTA, M.; MILLET, S.; JANSSENS, G. P. J. Food allergy in dogs and cats: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 3, p. 259–273, 2006.
- VOLKMANN, M.; STEINER, J. M.; FOSGATE, G. T.; ZENTEK, J.; HARTMANN, S.; KOHN, B. Chronic Diarrhea in Dogs – Retrospective Study in 136 Cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 4, p. 1043–1055, 1 jul. 2017.
- WAITE, O.; YAFFY, D.; KATHRANI, A. Repeat histopathology and culture of colonic biopsy specimens after treatment for Escherichia coli-associated granulomatous colitis in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 9, n. 2, 1 jul. 2023.
- WASHABAU, R. J.; DAY, M. J.; WILLARD, M. D.; HALL, E. J.; JERGENS, A. E.; MANSELL, J.; MINAMI, T.; BILZER, T. W. ACVIM Consensus statement endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals. **J Vet Intern Med**, v. 24, p. 10–26, 2010.
- WILLARD, M. D.; HELMAN, G.; FRADKIN, J. M.; BECKER, T.; BROWN, R. M.; LEWIS, B. C.; WEEKS, B. R. Intestinal crypt lesions associated with protein-losing enteropathy in the dog. **Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 3, p. 298–307, 2000.
- WILLARD, M. D.; JERGENS, A. E.; DUNCAN, R. B.; LEIB, M. S.; MCCracken, M. D.; DENOVO, R. C.; HELMAN, R. G.; SLATER, M. R.; HARBISON, J. L. Interobserver variation among histopathologic evaluations of intestinal tissues from dogs and cats. **JAVMA**, v. 220, n. 8, p. 1177–1182, 2002.