

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JÉSSICA NAIARA VOITENA

APLICAÇÃO DO OSA-VET® E OS TESTES LACRIMAIS QUALIQUANTITATIVOS
EM CÃES BRAQUICEFÁLICOS COM E SEM CERATOCONJUNTIVITE SECA

PALOTINA

2023

JÉSSICA NAIARA VOITENA

APLICAÇÃO DO OSA-VET® E OS TESTES LACRIMAIS QUALIQUANTITATIVOS
EM CÃES BRAQUICEFÁLICOS COM E SEM CERATOCONJUNTIVITE SECA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Setor de Palotina, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Olicies da Cunha

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Luiz da Cunha Brito

PALOTINA

2023

Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas.
Biblioteca UFPR Palotina.

V898

Voitena, Jéssica Naiara

Aplicação do OSA-VET® e os testes lacrimais qualiquantitativos
em cães braquicefálicos com e sem ceratoconjuntivite seca
/ Jéssica Naiara Voitena. – Palotina, PR, 2023.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor Palotina, PR, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.
Orientador: Prof. Dr. Olicies da Cunha.
Coorientador: Prof. Dr. Fábio Luiz da Cunha Brito.

1. Filme lacrimal. 2. Meniscometria. 3. Teste de Schirmer.
I. Cunha, Olicies da. II. Brito, Fábio Luiz da Cunha.
III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDU 636.7

Bibliotecária: Aparecida Pereira dos Santos – CRB 9/1653



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL -
40001016077P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de JESSICA MAIARA VOITENA intitulada: **APLICAÇÃO DO OSA-VET® E OS TESTES LACRIMAIS QUALIQUANTITATIVOS EM CÃES BRAQUICEFÁLICOS COM E SEM CERATOCONJUNTIVITE SECA**, sob orientação do Prof. Dr. OLÍCIES DA CUNHA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita a homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 10 de Março de 2023.

Assinatura Eletrônica

14/03/2023 23:05:22.0

OLÍCIES DA CUNHA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

14/03/2023 10:17:48.0

MARILENE MACHADO SILVA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

14/03/2023 13:27:37.0

DANIELA NOGUEIRA CREMONINI

Avaliador Externo (UNESP)

R. Pioneiro, 2153 - PALOTINA - Paraná - Brasil

CEP 85950-000 - Tel: (44) 3211-8529 - E-mail: ppgca.ufpr@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 263902

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 263902

AGRADECIMENTOS

É difícil conseguir expressar toda minha gratidão, a todas as pessoas que já passaram ou que ainda permanecem na minha jornada. Agradeço a Deus, todos os dias, por ter colocado cada uma delas em meu caminho, auxiliando minha chegada até aqui.

Dedico essa etapa principalmente à minha família, a qual sempre me ensinou com muito amor e luta que estudar nunca é demais e que sempre podemos ir mais longe. A meus pais, irmãos, cunhado e sobrinhos, obrigada por me apoiarem das melhores formas. Amo imensamente vocês!

A meu marido, Rhayann, que sempre esteve presente em todas minhas conquistas profissionais e pessoais, mesmo isso custando minha ausência em diversos momentos. Obrigada pela paciência e pelo carinho que sempre teve, ter você ao meu lado fez tudo ser mais leve. Amo muito você!

Meu infinito agradecimento aos meus "pais" do mundo profissional. Prof. Olicies da Cunha, que abriu as portas do mundo da oftalmologia, me apresentando a oftalmologia veterinária e posteriormente prof. Fábio Brito, me adotando como uma filha. Sou imensamente grata por cada "puxão de orelha", cada conselho, pela confiança no meu trabalho e todo amor pelo mundo da oftalmologia que vocês sempre demonstraram, me fazendo amar ainda mais essa área. Vocês dois são minha inspiração diária, como pessoas e profissionais. Agradeço aos dois por serem meus orientadores no mestrado e por toda a paciência e carinho. Não podia ter sido melhor!

A vocês Evelyn, Solimar, Franklyn, Bárbara e Anthony, meus amigos de jornada que, mesmo longe, me apoiaram muito durante o mestrado e me ajudaram de diversas formas. Com vocês, foi mais fácil, mais leve e mais divertida essa fase.

À minha mãe do coração, Tatiane Ozório. Você me adotou como uma filha desde o primeiro dia que pisei em São Paulo e abraçou o mestrado comigo, me ajudando de todas as formas, emprestando a clínica e os equipamentos, recrutando animais pro projeto, pensando em novas ideias, você é sensacional! Amo você e te admiro demais!

Aos professores Daniela Cremonini, João Leandro e Fabiano Montiani, os quais foram essenciais para o desenvolvimento do meu mestrado. Agradeço imensamente toda a ajuda, a paciência e em especial a profa. Daniela, por aceitar fazer parte da banca e participar dessa fase importante do meu mestrado.

Às clínicas e veterinários que abriram as portas para eu realizar meu mestrado, emprestando o espaço, ajudando a divulgar e desenvolver o projeto: Atendimento Médico Animal (Tati, Ana Catarina, Gabi), Clinicat (Anna, Juliana), MorumbiVhet (Bruno, Eigla, Pamela, Laís), Zelão Dog (Fabiana, Amanda, Jade), PetVision (Daniela, Anna, João), Dog Up (Magali, Juan, Pamela), agradeço imensamente a cada um de vocês. À Nadja, que foi minha estagiária e mão direita na coleta dos dados, obrigada por passar alguns finais de semana comigo nessa luta, sua ajuda foi primordial!

Meu muito obrigada a minha psicológica, Jéssica, que esteve presente nos meus altos e baixos. Só você sabe a montanha russa que foi esse mestrado, mas da melhor forma possível você sempre me fez lembrar o quanto essa fase era importante e o porquê eu estava ali.

E à UFPR – Setor Palotina, que esteve sempre presente na minha formação profissional! Tenho um orgulho enorme em dizer que sou UFPR Palotina e agradeço por ter tido a oportunidade de retornar, anos depois da minha graduação e residência, tendo as portas abertas para o mestrado. Orgulho ser UFPR!

A lagarta disse que ia voar.
todos riram dela, menos as borboletas.
caminhe com quem acredita em você.
(Autor desconhecido)

RESUMO

A ceratoconjuntivite seca é uma das afecções mais comuns nas raças braquicefálicas. Vários testes são realizados nestes pacientes afim de avaliar a quantidade e qualidade do filme lacrimal. O presente trabalho teve como objetivo comparar a correlação dos resultados obtidos com o aparelho OSA-Vet® e os testes convencionais (Teste Lacrimal de Schirmer, *I-Tear*® test e tempo de ruptura do filme lacrimal) na avaliação de pacientes com e sem ceratoconjuntivite seca. Foram avaliados quarenta e cinco cães, de raças braquicefálicas, divididos em quatro grupos: G1: cães com TLS 15 a 25mm/min; G2: TLS 11 – 14mm/min; G3: TLS 6 – 10mm/min; G4: TLS 0-5mm/min. Todos os pacientes foram submetidos à avaliação oftalmológica nesta ordem, com intervalo de 10 minutos entre cada teste: avaliação com OSA-Vet® (mensuração do tempo de ruptura do filme lacrimal de forma não invasiva (TRFL-NI) e altura do menisco lacrimal (AML)), meniscometria (*I-Tear*® test), teste lacrimal de Schirmer 1 (TLS-1), avaliação oftálmica com lâmpada de fenda e teste de ruptura do filme lacrimal com fluoresceína (TRFL). A análise dos dados mostrou uma distribuição normal. Observou-se valores no G1, de TLS, *I-Tear*® test e AML (OSA-Vet®), $20,48 \pm 2,76$, $7,64 \pm 3,00$ e $0,51 \pm 0,17$ respectivamente, considerados dentro do padrão de normalidade. No entanto, o TRFL e o TRFL-NI (OSA-Vet®) foram $4,44 \pm 5,05$ e $3,88 \pm 4,24$ respectivamente, abaixo dos valores de referência. Em relação aos grupos G2, G3 e G4, dos pacientes com graus de ceratoconjuntivite seca, observa-se o *I-Tear*® test e o AML com valores mais próximos a normalidade em G2 e G3, porém em G4 valores muito abaixo da normalidade. Nos testes de TRFL e TRFL-NI (OSA-Vet®) em todos os grupos os valores foram inferiores ao de referência, tendo o desvio padrão maior que o valor obtido, exceto no G4 do TRFL-NI (OSA-Vet®) que o valor foi 0 ± 0 . A correlação dos testes convencionais em relação ao OSA-Vet® mostrou-se baixa, exceto entre TRFL-NI (OSA-Vet®) com TRFL no G3, com forte correlação ($r=0,925$). Na comparação entre TRFL-NI (OSA-Vet®) com TRFL no G2 a correlação foi moderada ($r=0,547$) assim como TLS-1 com *I-Tear*® test no G3 ($r=0,416$). Na comparação entre grupos nos testes TRFL e TRFL-NI (OSA-Vet®) houve diferença significativa de todos os grupos com CCS comparado ao G1 (sem CCS). Na comparação no *I-Tear*® test e AML (OSA-Vet®) houve diferença significativa entre os grupos G1 e G4, G1 e G3, G2 e G4; exceto no G1 e G2 que foi apenas no AML (OSA-Vet®). Este estudo demonstrou que ainda não é possível substituir os testes convencionais pelo aparelho OSA-Vet®, e sim utilizá-lo como um adjuvante no diagnóstico de CCS, principalmente tratando-se de CCS qualitativa em cães braquicefálicos. Aponta-se que são necessários mais estudos utilizando esse aparelho e a necessidade de padronização de valores de referência dentre as raças.

Palavras-chave: Meniscometria. olho seco. Teste de Schirmer. *I-Tear*. filme lacrimal.

ABSTRACT

The keratoconjunctivitis sicca is one of the most common disorders in brachycephalic breeds. Several tests are performed in these patients to evaluate the quantity and quality of the tear film. The present study aimed to compare the correlation of the results obtained with the OSA-Vet® device and conventional tests (Schirmer's Lacrimal Test, I-Tear® test and tear break up time test) in the evaluation of patients with and without keratoconjunctivitis sicca. Forty-five brachycephalic dogs were evaluated, divided into four groups: G1: dogs with TLS 15 to 25 mm/min; G2: TLS 11 - 14 mm/min; G3: TLS 6 - 10 mm/min; G4: TLS 0-5 mm/min. All patients underwent ophthalmologic evaluation in this order, with a 10-minute interval between each test: evaluation with OSA-Vet® (measurement of tear film breakup time noninvasively (NIBUT) and tear meniscus height (TMH)), meniscometry (I-Tear® test), Schirmer's tear test 1 (TLS-1), ophthalmic evaluation with slit lamp, and tear break up time test with fluorescein (BUT). Data analysis showed a normal distribution. In G1, TLS, I-Tear® test and TMH (OSA-Vet®) values of 20.48 ± 2.76 , 7.64 ± 3.00 and 0.51 ± 0.17 , respectively, were considered within the normal range. However, BUT and NIBUT (OSA-Vet®) were 4.44 ± 5.05 and 3.88 ± 4.24 respectively, below the reference values. Regarding the groups G2, G3 and G4, of patients with degrees of keratoconjunctivitis sicca, we observed the I-Tear® test and TMH with values closer to normality in G2 and G3, but in G4 values far below normality. In the BUT and NIBUT (OSA-Vet®) tests in all groups the values were lower than the reference value, and the standard deviation was higher than the obtained value, except in G4 of the NIBUT (OSA-Vet®) where the value was 0 ± 0 . The correlation of conventional tests in relation to OSA-Vet® was low, except between NIBUT (OSA-Vet®) with BUT in G3, with a strong correlation ($r=0.925$). When comparing NIBUT (OSA-Vet®) with BUT in G2, the correlation was moderate ($r=0.547$) as well as TLS-1 with I-Tear® test in G3 ($r=0.416$). In the comparison between groups in the BUT and NIBUT (OSA-Vet®) tests there was a significant difference in all groups with KCS compared to G1 (without KCS). In the comparison in I-Tear® test and TMH (OSA-Vet®) there was significant difference between groups G1 and G4, G1 and G3, G2 and G4; except in G1 and G2 that was only in TMH (OSA-Vet®). This study showed that it is not yet possible to replace conventional tests by the OSA-Vet® device, but to use it as an adjuvant in the diagnosis of KCS, especially when it comes to qualitative KCS in brachycephalic dogs. It is pointed out that more studies using this device are needed and the need for standardization of reference values among the breeds.

Keywords: Meniscometry. Dry eye. Schirmer test. I-tear. Tear film.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelos de dois testes utilizados para mensuração quantitativa da lágrima: (a) Teste lacrimal de Schirmer; (b) <i>I-Tear</i> [®] test (meniscometria lacrimal)	22
Figura 2. Modelos de dois testes utilizados para mensuração quantitativa da lágrima: (a) Ponta de papel absorvente endodôntico padronizado; (b) Fio vermelho de fenol.....	24
Figura 3. Demonstração da mensuração da altura do menisco lacrimal no aparelho OSA-Vet [®] . Observe a seta verde, delimitando e aferindo a altura do menisco lacrimal (0,39mm)	29
Figura 4. Imagem demonstrando o exame de Tempo De Ruptura Do Filme Lacrimal Não Invasivo (TRFL-NI) no aparelho OSA-Vet [®] . Observe a seta branca demonstrando o local da quebra do filme lacrimal.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

AML	- Altura do Menisco Lacrimal
BUT	- <i>Tear Break Up Time Test</i> (Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal)
CCS	- Ceratoconjuntivite seca
DEWS	- <i>Workshop Dry Eye</i> (Workshop Olho Seco)
FVF	- Fio Vermelho de Fenol
IFN	- Interferon
IgA	- Imunoglobulina A
IL	- Interleucina
MUC	- Mucinas
NIBUT	- <i>Non-Invasive Tear Film Breakup Time</i> (Tempo de Ruptura Do Filme Lacrimal Não Invasivo)
OFL	- Osmolaridade do Filme Lacrimal
OSA-Vet	- <i>Ocular Surface Analyser – Vet</i> (Analisador de Superfície Ocular Veterinário)
TFOS	- <i>Tear Film and Ocular Surface Society</i> (Sociedade de Filme Lacrimal e Superfície Ocular)
TLS	- Teste Lacrimal de Schirmer
TMH	- <i>Tear Meniscus Height</i> (Altura do Menisco Lacrimal)
TML	- Teste de Meniscometria Lacrimal
TNF	- Fator de Necrose Tumoral
TPPAE	- Teste de Ponta de Papel Absorvente Endodôntico
TRFL	- Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal
TRFL-NI	- Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal Não Invasivo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	FILME LACRIMAL	15
2.1.1	Camada lipídica	16
2.1.2	Camada mucoaquosa.....	16
2.2	CERATOCONJUNTIVITE SECA	18
2.2.1	Etiologia e fisiopatologia	19
2.2.2	Classificação	21
2.2.3	Manifestações clínicas.....	21
2.2.4	Diagnóstico.....	21
2.2.5	<i>Ocular Surface Analyser – Vet (OSA-Vet®)</i> (Analisador de Superfície Ocular Veterinário).....	27
3	APLICAÇÃO DO OSA-VET® E OS TESTES LACRIMAIS QUALIQUANTITATIVOS EM CÃES BRAQUICEFÁLICOS COM E SEM CERATOCONJUNTIVITE SECA	32
	REFERÊNCIAS	49
	APÊNDICE 1 – FICHA DE COLETA DE DADOS.....	57
	ANEXO 1 – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO CEUA/PALOTINA	58

1 INTRODUÇÃO

A estabilidade do filme lacrimal é uma condição importante para homeostase da superfície ocular, em grande parte porque forma a superfície de refração para entrada da luz no sistema visual, mas também protege e hidrata a córnea. O filme lacrimal ajuda a remover resíduos e detritos, fornece umidade, lubrificação e nutrientes essenciais, como oxigênio e glicose, para a córnea avascular, além de conter imunoglobulinas, enzimas e outras proteínas que são importantes para a proteção do olho (PICCIONE et al., 2009; WILLCOX et al., 2017).

O filme lacrimal é formado pela secreção oriunda das glândulas lacrimais, juntamente com as células calciformes presentes na conjuntiva e pelas glândulas de meibomio nas pálpebras. Para que o filme lacrimal cumpra efetivamente essa função, suas duas camadas (mucoaquosa e lipídica) devem estar intactas e em constante equilíbrio. Qualquer alteração nessas camadas que estão intimamente interligadas provocará mudanças na superfície ocular gerando estresse hiperosmolar e, conseqüentemente, uma cadeia de eventos inflamatórios (AGUILAR, 2008; BRON et al., 2017; WILLCOX et al., 2017).

No tocante a alterações da homeostase da superfície ocular, a ceratoconjuntivite seca (CCS) ou síndrome do olho seco é uma doença multifatorial que afeta a superfície ocular. A condição de hiperosmolaridade observada nessa afecção é um dos principais impulsionadores da cascata de eventos inflamatórios, contribuindo para o ciclo de inflamação da glândula lacrimal, instabilidade do filme lacrimal e agravamento dos sinais (WILLIAMS, 2008; JACKSON et al., 2011; BRON et al., 2017).

As causas primárias de CCS incluem doenças infecciosas, neurogênicas, sistêmicas, toxicidade medicamentosa, doenças imunomediadas e causas iatrogênicas, dentre outras. Estudos demonstram que a CCS em cães apresenta aumento do número de linfócitos e plasmócitos com atrofia acinar nas glândulas lacrimais indicando doença imunomediada das glândulas lacrimais. A CCS imunomediada é tipicamente bilateral e afeta muitas das raças caninas (ICZI et al., 2002; BERDOULAY et al., 2005; HENDRIX et al., 2011).

Além da avaliação oftalmológica, vários são os testes disponíveis para o auxílio no diagnóstico de CCS. Dentre eles, os mais utilizados são o Teste Lacrimal de Schirmer-1 e 2 (TLS), que quantifica a porção aquosa da lágrima e Tempo de

Ruptura do Filme Lacrimal (TRFL), usado na avaliação da qualidade do filme lacrimal e sua adesão á superfície ocular (BARABINO et al., 2004; RIBEIRO et al., 2008; WILLIAMS, 2008; MIYASAKA et al., 2019). Recentemente o aparelho *Ocular Surface Analyser – Vet* (OSA-Vet®, SBM Sistemi, Torino, Itália) foi lançado no Brasil no intuito de avaliar as glândulas de meibomio e o filme lacrimal de forma não invasiva, auxiliando no diagnóstico de pacientes com CCS (KIM et al., 2022; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2022). Deste modo, o objetivo deste trabalho foi comparar os parâmetros dos testes oftálmicos convencionais (Teste Lacrimal de Schirmer-1, *I-Tear*® test, Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal) com as imagens obtidas pelo OSA-Vet® na avaliação de cães braquicefálicos hígidos e com ceratoconjuntivite seca.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Breve revisão de literatura abordando anatomofisiologia lacrimal, ceratoconjuntivite seca e os seus principais métodos diagnósticos.

2.1 FILME LACRIMAL

O filme lacrimal anteriormente descrito como trilaminar, composto por uma camada de mucina produzida pelas células caliciformes conjuntivais, com função de reduzir a hidrofobicidade das células epiteliais e aumentar a adesão da lágrima na superfície ocular; aquosa produzida pelas glândulas lacrimais e nictitante, responsável pela proteção e nutrição da córnea; e a lipídica, produzida pelas glândulas meibomianas das pálpebras, com função de evitar a evaporação excessiva e o transbordamento da lágrima (HOLLY & LEMP, 1977; MCKENZIE et al., 2000; ACTON et al., 2006; WILLIAMS, 2008; WILLCOX et al., 2017). As glândulas de meibomio e de secreção lacrimal e as células caliciformes em conjunto produzem, água, antimicrobianos protetores, imunoglobulinas, citocinas, lipídios, mucinas e nutrientes para a superfície ocular (GIPSON et al., 2009; WILLCOX et al., 2017).

As mucinas da superfície ocular são sintetizadas pelo epitélio da córnea e da conjuntiva e glândulas lacrimais, sendo classificadas em dois tipos: mucinas secretoras e de transmembrana. Sabe-se que o epitélio da córnea possui um glicocálice superficial composto por mucinas que atravessam a membrana (incluindo MUC1, 3, 4, 12, 13 e 16), que tem a capacidade de sinalização através de sua cauda citoplasmática e domínios semelhantes a fatores de crescimento epitelial extracelular (WILLIAMS, 2008; WILLCOX et al., 2017).

A camada aquosa da lágrima é preenchida com mucinas clivadas ligadas à membrana, pequenas mucinas solúveis (MUC 7 e 9) e grandes mucinas formadoras de gel (incluindo MUC2, 5, 6 e 19) (WILLIAMS, 2008). Nos últimos anos uma nova descrição vem sendo feita, comprovando essas evidências de que a camada de mucina possui um gradiente de concentração de origem no epitélio da córnea em direção a camada aquosa, essa interação complexa forma uma única camada, denominada mucoaquosa (WILLCOX et al., 2017). Sendo assim, teríamos duas camadas lacrimais extremamente complexas, a lipídica e a mucoaquosa.

2.1.1 Camada lipídica

A camada lipídica forma a camada anterior do filme lacrimal, produto das glândulas meibomianas (óleo ou lipídio de meibom, também chamado de meibum) (BRON, 2004). As glândulas meibomianas são glândulas túbulo-acinares, holócrinas, ou seja, toda a célula e seu conteúdo são liberados. Cada glândula consiste em uma série de cachos acinares semelhantes a uvas, conectados por ductulos finos a um ducto principal. Seus orifícios se abrem estrategicamente sobre a pele da margem palpebral, imediatamente anterior à junção mucocutânea. Desta forma, a secreção meibomiana é entregue nos reservatórios marginais, sendo espalhada no filme lacrimal a cada piscar (BRON, 2004; DAVIDSON & KUONEN, 2004; KNOP, 2011; WILLCOX et al., 2017).

Atualmente, a visão predominante é que o filme lacrimal é uma estrutura bastante estratificada, cuja subcamada superior é formada principalmente por meibum, composto principalmente por lipídios neutros, como ésteres de cera, ésteres de colesterol, colesterol livre e triacilgliceróis, e menores quantidades de compostos mais polares, como ácidos graxos livres, fosfolipídios, esfingomielinas e ceramidas, entre outros (HOLLY & LEMP, 1977; BRON, 2004; BUTOVICH, 2017). Devido a sua composição ser principalmente de ésteres de cera e colesterol, perfazendo até 70% do total, e estes são altamente hidrofóbicos, a lágrima contém lipídios polares, embora em quantidades menores (<5% do total), eles são importantes para espalhar a camada lipídica sobre o filme lacrimal aquoso (DARTT & WILLCOX, 2013).

A camada lipídica fornece a lubrificação e evita a evaporação e o transbordamento da lágrima da margem da pálpebra. Essa camada atua como um lubrificante permitindo o movimento suave das pálpebras sobre o bulbo ocular. Os componentes lipídicos também diminuem a tensão superficial do filme lacrimal, o que pode promover a integridade da porção aquosa (MENAKA & PURI, 2015; WILLCOX et al., 2017).

2.1.2 Camada mucoaquosa

A camada aquosa é a principal camada do filme lacrimal. Ela contém lactoferrina, lisozima, imunoglobulina A secretora (sIgA), imunoglobulina G (IgG), imunoglobulina M (IgM), albumina, transferrina, ceruloplasmina, pré-albumina

específica da lágrima e glicoproteínas, que participam da defesa da superfície ocular. Além disso, a nutrição fornecida para a córnea avascular pela camada aquosa inclui sais inorgânicos, glicose, oxigênio e proteínas. A porção aquosa do filme lacrimal é composta por 98,2% de água e 1,8% de sólidos, com proteínas constituindo a maioria dos sólidos além de níveis detectáveis de aminoácidos, bicarbonato, cálcio, ureia e magnésio (DAVIDSON & KUONEN, 2004; WINIARCZYK et al., 2015; MENAKA & PURI, 2015).

Na maioria dos animais, a glândula lacrimal e a glândula da terceira pálpebra produzem a camada aquosa. Essas glândulas tubuloacinares com ductulos liberam secreções lacrimais para os fórnices conjuntivais. Como resultado dos movimentos das pálpebras, o fluido lacrimal espalha-se sobre a córnea e produz uma fina camada que nutre e umedece a córnea. Durante os períodos entre as piscadas, ocorre uma evaporação lenta e contínua do filme lacrimal da superfície ocular, mas a fina camada de lipídio produzida pela glândula tarsal, ou meibomiana, impede até certo ponto a evaporação da camada aquosa (DAVIDSON & KUONEN, 2004; MENAKA & PURI 2015).

Para o filme lacrimal ter boa adesão e dispersão na superfície ocular, as superfícies apicais do epitélio da córnea e da conjuntiva apresentam mucinas transmembrana que aumentam a tensão de adesão da água, facilitando o espalhamento da lágrima na superfície ocular (WILLCOX et al., 2017).

As mucinas produzidas pelas células epiteliais da conjuntiva pelas células caliciformes e pelo epitélio corneal não apenas fornecem uma linha de defesa para a superfície do olho, protegendo-a do ambiente externo, mas também desempenham um papel na manutenção de sua saúde, auxiliando na aderência do filme lacrimal à superfície ocular. A glândula lacrimal principal também é fonte de mucinas no filme lacrimal e sintetiza MUC4 e MUC7. Dependendo do tipo, essas mucinas formam o glicocálice ou são secretadas e incorporadas à camada mucosa do filme lacrimal que cobre a superfície ocular (BARABINO et al., 2004; DARTT, 2004; DARTT & WILLCOX, 2013; MENAKA & PURI 2015, BRON et al., 2017).

Quanto às mucinas, uma ampla miríade tem sido identificada no filme lacrimal. As mais de vinte mucinas identificadas até o momento são divididas em pequenas secretoras, grandes formadoras de gel e transmembrana. Embora a maioria das estruturas que participam da produção da lágrima também secrete mucinas, as

mucinas mais importantes para a proteção da superfície ocular são, a mucina grande formadora de gel MUC5AC secretada pelas células da conjuntiva e as mucinas transmembrana MUC 1, MUC4 e MUC 16 produzidas pelas células escamosas estratificadas da córnea e da conjuntiva. Essas mucinas formam a camada de filme lacrimal que está mais próxima da superfície do epitélio corneano e conjuntival e, portanto, desempenham papéis críticos de proteção e homeostáticos (BARABINO et al., 2004; DARTT, 2004; NIV & BOLTIN, 2012; DARTT & WILLCOX, 2013, HODGES & DARTT, 2013, ABLAMOWICZ & NICHOLS, 2016).

As mucinas epiteliais são um grupo heterogêneo de glicoproteínas de alto peso molecular e apresentam-se como os principais componentes proteicos da fase aquosa do fluido lacrimal (ARGÜESO & GIPSON, 2001). A hidratação da mucina requer secreção de eletrólitos e água pelo epitélio conjuntival, bem como a composição eletrolítica adequada e a quantidade da camada aquosa das lágrimas (DARTT, 2004).

Há outro grupo de células na conjuntiva, as células epiteliais conjuntivais que produzem, além da água, eletrólitos e mucinas; proteínas funcionais para a lubrificação. Por exemplo, elas contêm canais de água transmembrana (aquaporinas) responsáveis pelo movimento da água entre a conjuntiva e a fase aquosa do filme lacrimal (BRON et al, 2017).

A camada de muco não está firmemente aderida à camada epitelial, mas se liga ao glicocálice e se move livremente através da córnea. Isso permite que o muco se espalhe uniformemente pelas células e evita danos ao epitélio durante o ato de piscar (DAVIDSON & KUONEN, 2004).

Uma classificação mais recente, estabelece que o filme lacrimal é definido como uma estrutura de bicamada, além da camada lipídica há a camada na qual a camada mucosa e a aquosa são combinadas formando uma única estrutura, a mucoaquosa, ocupando a maior parte da espessura da lágrima e interage diretamente com o glicocálice do epitélio (CHER, 2012; WILLCOX et al., 2017; BRON et al, 2017; OZULKEN et al., 2020).

2.2 CERATOCONJUNTIVITE SECA

A ceratoconjuntivite seca (CCS), também chamada de “olho seco”, é uma doença inflamatória crônica caracterizada notadamente pela produção deficiente da

porção aquosa do filme lacrimal (distúrbio quantitativo) ou pela evaporação excessiva da lágrima (distúrbio qualitativo) (RIBEIRO et al., 2008; WILLIAMS, 2008).

Segundo a nova definição da TFOS DEWS II:

O olho seco é uma doença multifatorial da superfície ocular caracterizada pela perda da homeostase do filme lacrimal e acompanhada de sintomas oculares, na qual a instabilidade e hiperosmolaridade do filme lacrimal, a inflamação e os danos da superfície ocular e as anormalidades neurossensoriais desempenham um papel etiológico (CRAIG et al., 2017, p.278).

Recentemente, tornou-se claro que para entender a fisiologia da produção de lágrimas e a fisiopatologia do olho seco, toda a unidade das glândulas lacrimais, superfície ocular e inervação que as conecta precisa ser considerada completamente para descrever os eventos patológicos que ocorrem na ceratoconjuntivite seca (WILLIAMS, 2008).

2.2.1 Etiologia e fisiopatologia

Existem várias causas conhecidas de CCS em cães, incluindo toxicidade medicamentosa ou induzida por drogas (sulfonamidas, atropina, psicotrópicos, agentes anestésicos); neurogênicas (lesão de nervo facial ou de nervo trigêmeo); iatrogênicas (excisão de glândula da 3° pálpebra); distúrbios endócrinos; irradiação; infecções primárias (cinomose, leishmaniose); doença metabólica (diabetes mellitus, hipotireoidismo); blefaroconjuntivite crônica; trauma e hipoplasia congênita. No entanto, na maioria dos casos, a etiologia subjacente não é discernível. Estudos histopatológicos prévios sugerem que nestes casos, a CCS é o resultado de inflamação imunomediada e da destruição das glândulas lacrimais representando a maior proporção dos casos (ICZI et al., 2002; BARABINO et al., 2004; BERDOULAY et al., 2005; ACTON, et al., 2006; HARTLEY et al., 2006, PICCIONE et al., 2009).

A CCS em cães é mais frequentemente considerada imunomediada com base em estudos que mostraram aumento do número de linfócitos e plasmócitos com atrofia acinar nas glândulas lacrimais. No entanto, não foram encontradas diferenças significativas na proliferação de linfócitos no sangue ou no número de linfócitos CD4+ e CD8+ entre cães com CCS e cães clinicamente normais. Isso sugere que a CCS pode estar associada a distúrbios imunológicos na glândula lacrimal, em vez de uma doença imunomediada multissistêmica (ICZI et al., 2002; HENDRIX et al., 2011).

Na lágrima existem também proteínas de defesa, como lisozima, lactoferrina, proteína surfactante-D e peptídeo trefoil, envolvidos com a imunidade inata, e IgA. Essas proteínas de origem lacrimal, como lisozima e lactoferrina, diminuem na CCS por deficiência aquosa, tornando o olho mais vulnerável às infecções (BARABINO et al., 2004; BRON et al, 2017).

O estresse na superfície ocular (fatores ambientais, infecção, estresse endógeno, antígenos, fatores genéticos) é postulado como o mecanismo desencadeante da doença. Citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e metaloproteinases de matriz levam à expansão de células T auxiliares autorreativas que se infiltram na superfície ocular e na glândula lacrimal (MESSMER, 2015). Albertsmeyer et al. (2010) relatam, em humanos número aumentado de mediadores inflamatórios solúveis, incluindo interleucina (IL)-6 e -8, fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e Interferon- γ (IFN- γ) detectado em lágrima de pacientes com olho seco.

A patogênese da CCS inclui a presença de citocinas inflamatórias como IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α e IFN- γ na superfície ocular desencadeada pelo ressecamento que altera a osmolaridade do filme lacrimal, produzindo mais inflamação, perpetuando o fenômeno em processo de feedback positivo (MOLINA-LEYVA et al., 2017) favorecendo a hiperosmolaridade. Mesmo na CCS por aumento da evaporação, deficiência na produção ou alterações na composição; em todos os casos o correlato fisiopatológico é o aumento da osmolaridade do filme lacrimal nas primeiras 24 horas após o início da diminuição volumétrica (AGUILAR, 2008).

No tocante à osmolaridade do filme lacrimal, sabe-se que o estado hiperosmolar é um fator central na patogênese da CCS qualitativa e quantitativa. A hiperosmolaridade lacrimal resultante da diminuição do fluxo lacrimal ou do rompimento do filme lacrimal contribui para o dano da superfície ocular tanto direta quanto indiretamente, por meio da cascata de eventos inflamatórios. Este ambiente inflamatório hiperosmolar favorece a apoptose epitelial da córnea e da conjuntiva e das células caliciformes, o que contribui ainda mais para a instabilidade do filme lacrimal. A inflamação induzida pela instabilidade e hiperosmolaridade do filme lacrimal também contribui para a inflamação crônica neurogênica e aumento da gravidade da doença (BARABINO et al., 2004; BAUDOQUIN, 2007; DART & WILLCOX, 2013; BUTOVICH, 2017; BRON et al., 2017).

Hartley et al. (2006) demonstraram em seu estudo que os valores do TLS-1 diminuem com a idade no animal normal. É proposto que a redução da capacidade funcional das glândulas lacrimais e glândula da terceira pálpebra resultaria em diminuição da produção lacrimal e que em um estudo longitudinal que reproduza a diminuição da produção lacrimal com a idade pode-se ter significância clínica na previsão da idade mais provável de início da CCS em animais suscetíveis.

2.2.2 Classificação

A CCS pode ser dividida em dois tipos: uma em que há produção insuficiente da camada aquosa do filme lacrimal (deficiência quantitativa) e em evaporação excessiva da lágrima ou deficiência na adesão à superfície ocular (deficiência qualitativa) devido à produção inadequada de lipídios ou mucina (BERDOULAY et al., 2005; WILLIAMS, 2008; NASCIMENTO et al., 2022).

2.2.3 Manifestações clínicas

Clinicamente, a CCS se manifesta como secreção ocular que varia de mucóide a mucolipídica, hiperemia conjuntival, blefarospasmo, ulceração da córnea, edema, vascularização e/ou fibrose da córnea e eventual pigmentação. A perda de visão devido à pigmentação progressiva da córnea é comum nos casos crônicos. Casos de perda ocular podem resultar de perfuração corneana secundária à ulceração profunda (BERDOULAY et al., 2005; PICCIONE et al., 2009; HENDRIX et al., 2011).

2.2.4 Diagnóstico

Vários são os testes disponíveis para o auxílio no diagnóstico de CCS além da avaliação clínica. Os testes podem ser divididos em quantitativo, como o Teste Lacrimal de Schirmer-1 e 2 (mais comumente usado), teste de meniscometria lacrimal, teste de lágrima do fio vermelho de fenol e teste de ponta de papel absorvente endodôntico; e qualitativo: tempo de ruptura do filme lacrimal, osmolaridade lacrimal, teste da samambaia (ferning test), avaliação com corantes como rosa bengala ou lissamina verde (BARABINO et al., 2004; MIYASAKA et al, 2019; BRITO et al., 2022).

Além do aparelho OSA-Vet® que possui testes que avaliam tanto a porção quantitativa quanto qualitativa da lágrima.

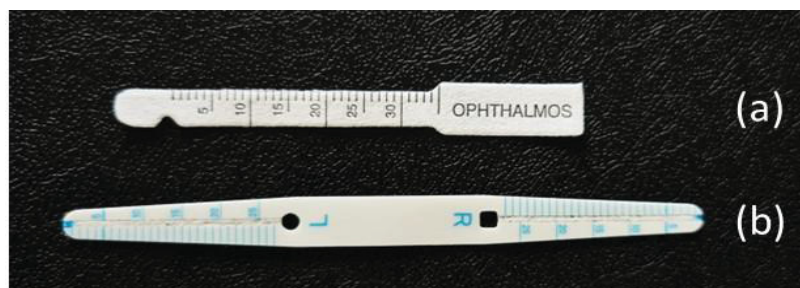
- Teste Lacrimal de Schirmer

O Teste Lacrimal de Schirmer (TLS) tem sido uma técnica quantitativa eficaz e padrão ouro para avaliar a porção aquosa do filme lacrimal. A capacidade de quantificar a produção lacrimal em pacientes caninos auxilia no diagnóstico e manejo clínico da CCS (HARTLEY et al., 2006; VISSER et al., 2017; MIYASAKA et al., 2019; NASCIMENTO et al., 2021).

O TLS usado rotineiramente para estimar a produção lacrimal em animais tem dois métodos de execução. O TLS-1 é o método convencional utilizado para avaliar a capacidade lacrimal basal e reflexa do paciente. O TLS-2 é realizado após a instilação de um anestésico tópico e avalia apenas a produção lacrimal basal (BERGER & KING, 1998; VISSER et al., 2017).

O teste é realizado com auxílio de um papel de filtro com 5 mm de largura e 35 mm de comprimento e é dobrado 5 mm de uma extremidade, com seus dois cantos cortados para minimizar a irritação conjuntival (Figura 1). Ele é inserido na metade lateral do saco conjuntival da pálpebra inferior, após remover suavemente o excesso de secreção da margem palpebral inferior, pode-se manter a pálpebra aberta ou fechada. O tempo padrão usado para medir a produção de lágrimas em animais é de 1 minuto (BARABINO et al., 2004; TOFFLEMIRE et al., 2015).

Figura 1. Modelos de dois testes utilizados para mensuração quantitativa da lágrima: (a) Teste lacrimal de Schirmer; (b) *I-Tear*® test (meniscometria lacrimal).



Fonte: O autor (2022).

Na rotina clínica, as leituras do TLS-1 em cães são geralmente interpretadas da seguinte forma: > 15 mm/min – produção normal; 11–14 mm/min = CCS subclínica;

6–10 mm/min = CCS moderada; < 5 mm/min CCS severa. E no TLS-2, o valor de referência normal é de: 11.6 ± 6.1 mm/min (HAEUSSLER, 2019; GIULIANO, 2021).

- Teste de meniscometria lacrimal

A meniscometria em tira foi relatada inicialmente por Dogru et al. (2006) como um novo dispositivo não invasivo para quantificar o volume lacrimal no menisco lacrimal em humanos. Semelhante ao TLS convencional, o teste de meniscometria lacrimal (TML) usa uma tira de absorção de lágrimas, como visto na Figura 1; no entanto, no TML, a tira toca apenas o menisco lacrimal (sem anestesia), em vez de ser inserida no saco conjuntival como é feito no TLS, sendo assim considerado menos invasivo (MIYASAKA et al., 2019).

Na realização do teste uma ponta da tira do TML é suavemente imersa no menisco lacrimal inferior, ligeiramente fora do centro temporal, e mantido por cinco segundos. A posição da pálpebra permanece neutra sem eversão manual durante o teste. O indicador de cor azul então cora gradualmente a porção da coluna do tubo a partir da ponta à medida que o fluido lacrimal é absorvido pela parte absorvente do tubo. A porção corada de azul da coluna é então lida imediatamente e registrada em milímetros em cinco segundos (DOGRU et al., 2006; MIYASAKA et al., 2019; NEGISHI et al., 2020). Durante o exame, as tiras de medição não devem entrar em contato com a córnea ou conjuntiva para evitar a secreção por falso estímulo (SCHULZE et al., 2020).

Os valores de meniscometria de tira em cães foram relatados em alguns estudos como $9,78 \pm 3,68$ mm/5s (MIYASAKA et al., 2019), $9,66 \pm 2,15$ mm/5s (RAJAEI et al., 2018) e $10,01 \pm 2,35$ mm/5s (NASCIMENTO et al., 2022).

Outra forma de avaliação do menisco lacrimal é através da mensuração da altura do menisco lacrimal, com a tomografia de coerência óptica (OCT) (SHINZAWA et al., 2015), ou por uma escala milimétrica de retícula na ocular da lâmpada de fenda (IBRAHIM et al., 2011), somente pela lâmpada de fenda (TOMLINSON et al., 2001) ou pelo OSA-Vet® (KIM et al., 2022).

- Teste de fio vermelho de fenol

O teste de lágrima do fio vermelho de fenol (FVF) é um método alternativo de medição da lágrima ao TLS. O FVF é um fio de algodão, com um comprimento de 75 mm, impregnado com vermelho de fenol. Este indicador sensível ao pH mudará de amarelo pálido para vermelho quando absorver lágrimas alcalinas. Uma dobra no fio a 3 mm da extremidade, permite a inserção no saco conjuntival sendo retirado após 15 segundos. A medição é feita em milímetros (SAITO et al., 2001; TOMLINSON et al., 2001; SMITH et al., 2015) (Figura 2).

Os valores do teste de lágrima FVF no cão é $34,15 \pm 4,45$ mm/15s. A principal vantagem do teste na oftalmologia veterinária é que ele pode ser usado em olhos pequenos e, portanto, é apropriado para muitas espécies não domésticas (GÜRKAN & HAYAT, 2005; TROST et al., 2007; THELIN et al., 2012; HAYAT & BIRICIK, 2014; SMITH et al., 2015; FORNAZARI et al., 2018; FEATHERSTONE & HEINRICH, 2021).

- Teste de ponta de papel absorvente endodôntico

O teste de ponta de papel absorvente endodôntico (TPPAE) é um exame mais recente na medicina veterinária, usado para quantificar a porção aquosa da lágrima, sendo relatado pela primeira vez em saguis por Lange et al. (2012). Este teste é particularmente adequado para olhos com produção de lágrimas muito baixa e/ou para olhos muito pequenos (FEATHERSTONE & HEINRICH, 2021).

A tira utilizada no teste é usada em odontologia e é altamente absorvente e estéril. O comprimento padrão é de 28 mm. A tira é colocada no fórnice conjuntival inferior, por um minuto. Após a remoção, o comprimento de umedecimento é medido em milímetros (LANGE et al., 2012; FORNAZARI et al., 2018) (Figura 2).

Figura 2. Modelos de dois testes utilizados para mensuração quantitativa da lágrima: (a) Ponta de papel absorvente endodôntico padronizado; (b) Fio vermelho de fenol.



FONTE: Adaptado de LANGE et al. (2012).

Esse teste tem sido utilizado em animais menores, jovens e em outras espécies animais que possuem pequenos comprimentos de fissura palpebrais, o que geralmente está ligado à menor produção global de lágrimas, ou que o TLS não pode ser realizado ou avaliado adequadamente (LANGE et al., 2012; LIMA et al., 2015). Trabalhos já foram publicados em várias espécies, incluindo o coelho (LIMA et al., 2015), jabuti-piranga (ORIÁ et al., 2015). Lange et al. (2014) padroniza valores de referência para tentilhão-de-barriga-castanha (*Sporophila angolensis*), o tentilhão-açafrão (*Sicalis flaveola*), tartaruga-de-ouvido-vermelho (*Trachemys scripta elegans*), e para duas espécies de laboratório, o camundongo (*Mus musculus*) e o rato (*Rattus norvegicus*).

- Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal

O Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal (TRFL) mede indiretamente a evaporação da lágrima (SEGEV et al., 2020) avaliando a estabilidade do filme lacrimal (BARABINO et al., 2004) através das camadas de mucina e/ou lipídios do filme lacrimal, medindo o tempo que leva para o corante de fluoresceína e, portanto, o filme lacrimal, se dissociar da superfície da córnea (FEATHERSTONE & HEINRICH, 2021).

Para a realização do teste é aplicada fluoresceína líquida na superfície ocular por meio de uma micropipeta, ou por uma tira de fluoresceína umedecida, o tempo desde a abertura dos olhos até o aparecimento do primeiro ponto de ruptura na superfície da córnea é medido em segundos. Para indivíduos que sofrem de olho seco, as rupturas podem aparecer em poucos segundos distribuídas aleatoriamente (BARABINO et al., 2004; PENG et al., 2014).

O primeiro mecanismo de quebra do filme lacrimal proposto atribui a rápida quebra à migração de lipídios da camada lipídica da lágrima para a região mucosa e adsorção desses lipídios à mucina ligada à membrana do glicocálice. Acredita-se que a adsorção de lipídios exponha a extremidade polar da molécula lipídica ao filme lacrimal aquoso, que então se rompe localmente sobre a região contaminada por lipídios devido ao aumento da hidrofobicidade do epitélio (PENG et al., 2014). Portanto, está associado a camada de filme lacrimal de mucina alterada que afeta a tensão superficial fornecida na superfície ocular pela camada lipídica (NICHOLS et al., 2003).

No cão, o TRFL oscila em virtude da conformação craniana e da raça. O tempo médio varia de $19,7 \pm 5$ a $21,53 \pm 7,42$ s (FEATHERSTONE & HEINRICH, 2021).

Nascimento et al. (2022) descreveram nos cães os valores de $25,82 \pm 5,47$ s e Sebbag et al. (2022) obtiveram valores de $5,3 \pm 2,4$ s do TRFL em cães da raça ShihTzu com TLS dentro do padrão de normalidade.

Na rotina clínica, consideramos o tempo normal de TRFL em cães de 20 segundos ou mais. Em animais afetados com deficiência de mucina, entretanto, a ruptura da lágrima geralmente ocorre em menos de 5 segundos (GIULIANO, 2021), mas esses valores podem variar de acordo com a raça dos pacientes.

- Osmolaridade do filme lacrimal

A osmolaridade do filme lacrimal (OFL) está relacionada à presença de eletrólitos no filme lacrimal, e é uma medida de soluto dentro do componente aquoso do filme lacrimal pré-ocular relatada como o número de osmoles de soluto por litro de solução (mOsm/L) (LAMKIN et al., 2020).

Para realização do teste é necessário o cartão de teste de uso único contendo microcanais para coletar o fluido lacrimal retido. Este é inserido em uma caneta (osmômetro) projetada para facilitar a coleta de lágrimas e lido em uma unidade portátil que mensura a osmolaridade do filme lacrimal por impedância elétrica. Amostras de lágrima são coletadas por capilaridade passiva do menisco lacrimal inferior próximo ao canto lateral, com manipulação mínima da pálpebra inferior (SEBBAG et al., 2017; LAMKIN et al., 2020; BRITO et al., 2022).

A osmolaridade do filme lacrimal pode estar aumentada por qualquer distúrbio que altere a evaporação da lágrima ou diminui a secreção da lágrima, o que reflete uma maior concentração de eletrólitos na superfície ocular. A sensibilidade e especificidade da osmolaridade lacrimal em detecção de CCS tem sido relatada com sucesso. No entanto, o teste requer uma amostragem muito cuidadosa das lágrimas para evitar a secreção lacrimal reflexa e a instrumentação é mais especializada e cara (BARABINO et al., 2004).

A osmolaridade lacrimal média descrita na literatura, em cães normais, é de $337,4 \pm 16,2$ mOsm/L (SEBBAG et al., 2017), $318,55 \pm 20,82$ mOsm/L (LAMKIN et al., 2020) e $315,27 \pm 6,15$ mOsm/L (BRITO et al., 2022).

- *Tear ferning test* ou teste da samambaia

O teste de samambaia ou *tear ferning test* é um teste que fornece informações importantes sobre a concentração de eletrólitos na lágrima. É um teste diagnóstico simples e de baixo custo que complementa a avaliação da superfície ocular em conjunto com testes padrão como o TLS (BARABINO et al., 2004; ORIÁ et al., 2018; FEATHERSTONE & HEINRICH, 2021).

As amostras de lágrima são coletadas com um capilar de vidro, do menisco lacrimal temporal inferior e colocadas em uma lâmina de microscopia de luz e deixadas secar por evaporação à temperatura ambiente. Os padrões de samambaias são observados e fotografados dentro de cinco a sete minutos da coleta em 40 a 100x ampliação, e classificado de acordo com as escalas de classificação de Rolando - 1 (padrão de samambaias completo, ininterrupto, sem espaços entre as samambaias) a 4 (ausência completa da samambaia) (BARABINO et al., 2004; JULIO et al., 2012; WILLCOX et al., 2017; WILLIAMS & HEWITT, 2017; FEATHERSTONE & HEINRICH, 2021).

Oriá et al., (2018) e Lamkin et al., (2020) demonstram que cães com TLS normal apresentam na escala de Rolando (1984) valores de 1 e 2 no teste de samambaia, semelhante ao trabalho de Williams e Hewitt (2017) que além de avaliarem cães com TLS normal, avaliam pacientes com CCS obtendo valores de 3 e 4 nestes cães.

Os fatores que influenciam o padrão de samambaia são o volume da lágrima, temperatura ambiente e umidade durante a secagem, cobertura da amostra de lágrima durante a secagem, tempo entre a coleta e avaliação e óleo nas lâminas de vidro (WILLCOX et al., 2017).

2.2.5 *Ocular Surface Analyser – Vet* (OSA-Vet®) (Analisador de Superfície Ocular Veterinário)

O OSA-Vet® (I.C.P OSA; SBM Sistemi, Itália) é um equipamento que foi lançado no Brasil em 2019. Tem a função de analisar rapidamente qual camada, dentre as camadas aquosa, mucínica e lipídica, apresenta anormalidades e auxiliar a definir o tipo de CCS (KIM et al., 2022; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2022).

A OSA-Vet® é um instrumento muito semelhante ao IDRA® *Ocular surface analyzer* (SBM Sistemi, Itália) – utilizado na medicina humana; no entanto, o IDRA®

realiza medição automática dos testes, enquanto com no OSA-Vet®, é necessário realizar manualmente (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2022).

Com o aparelho é possível realizar vários testes, como: interferometria (mensura a espessura da camada lipídica), meniscometria, meibografia, tempo de ruptura do filme lacrimal não-invasivo e topografia da superfície ocular (GEORGE & MOHAN, 2019; TOTUK et al., 2021; KIM et al., 2022).

A interferometria avalia o padrão de refletividade da luz na superfície e a dinâmica da camada lipídica do filme lacrimal, permitindo assim medir a estabilidade do filme lacrimal e a espessura da camada lipídica. O dispositivo ilumina a camada lipídica e o padrão definido pode ser comparado com a escala de classificação de referência. Para realizar as medidas, o olho do paciente deverá estar aberto, de preferência naturalmente, e a superfície da córnea é filmada usando o aparelho, imediatamente após a indução do reflexo palpebral, fazendo uma análise interferométrica da camada lipídica do filme lacrimal. Dependendo de sua espessura e regularidade, a camada lipídica pode apresentar qualquer uma das seguintes características: estrutura amorfa; aparência de mármore; aparência ondulada; e franjas de interferência amarelas, marrons, azuis ou avermelhadas, sendo esta última padrão de normalidade. Quando a ferramenta mostra um padrão branco fosco, significa que não há lipídios; se mostra um movimento branco e rápido da imagem, a camada lipídica está presente e em condição limítrofe; quando a imagem resultante está cheia de cores, significa que há muitos lipídios (GEORGE & MOHAN, 2019; KIM et al., 2022).

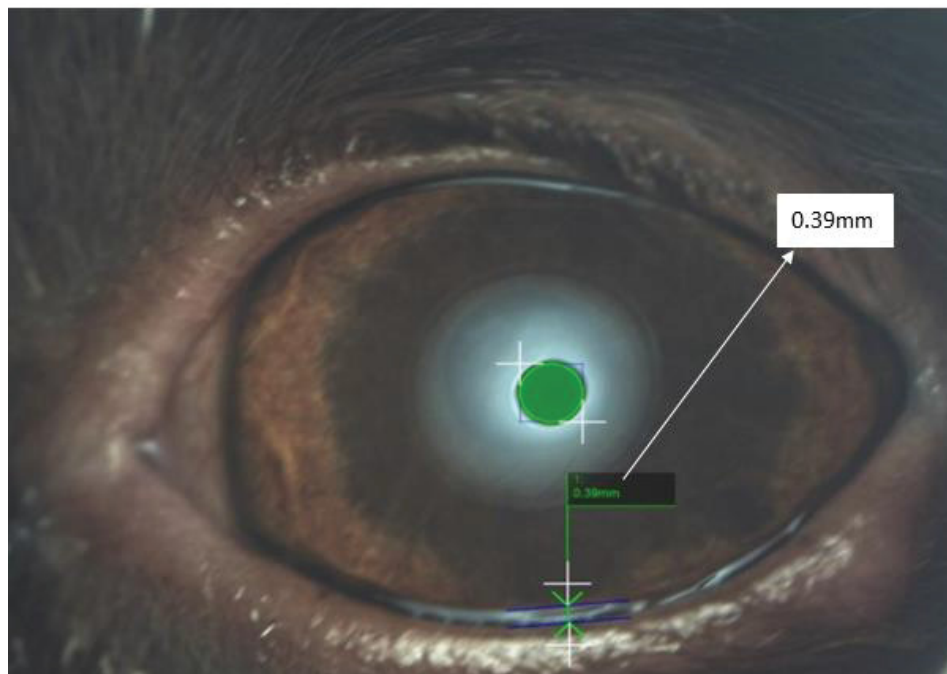
A avaliação pode ser feita de várias formas seguindo uma escala de classificação de três, cinco e oito graus para definir a espessura da camada lipídica (BAUDOIN, 2015; TOTUK et al., 2021; KIM et al., 2022). A escala de quadro de cinco graus é mais precisa e usada em pesquisa clínica (BAUDOIN, 2015).

De acordo com a escala de cinco graus as referências são, grau 0: incluiu casos de ausência quase completa da fase aquosa, com muco contaminado por lipídios sobre a superfície do epitélio da córnea; grau 1 (15–30nm), quando um padrão de malha homogênea fracamente visível está presente; grau 2 (31–60nm), quando se observa um padrão de malha mais compacto com ondas cinzas; grau 3 (61-100nm), quando se observa uma malha com ondas e franjas de interferência com algumas

cores e grau 4 (> 100nm), quando estão presentes ondas com muitas cores (VIÑAS et al., 2019).

O menisco lacrimal pode ser examinado considerando sua altura, regularidade e forma. Para a realização da meniscometria, a superfície ocular incluindo a pálpebra inferior é fotografada 3-4 segundos após o piscar. As bordas do menisco lacrimal superior e inferior são selecionadas manualmente pelo examinador para a mensuração da meniscometria. A avaliação da quantidade de filme lacrimal é feita com a ajuda de ferramentas de ampliação; possibilitando medir a altura do menisco lacrimal e avaliar suas características ao longo da margem da pálpebra inferior (BAUDOIN, 2015; GEORGE & MOHAN, 2019; KIM et al., 2022). Há poucos valores de referência na literatura. Em um estudo realizado por Kim et al. (2022) em Beagles com TLS normal, o valor padrão determinado foi $0,41 \pm 0,21$ mm, diferente do disponível pela empresa desenvolvedora do aparelho que define em animais normais o valor de $0,53 \pm 0,11$ mm (PERUCCIO et al., s.d.) (Figura 3).

Figura 3. Demonstração da mensuração da altura do menisco lacrimal no aparelho OSA-Vet®. Observe a seta verde, delimitando e aferindo a altura do menisco lacrimal(0,39mm).

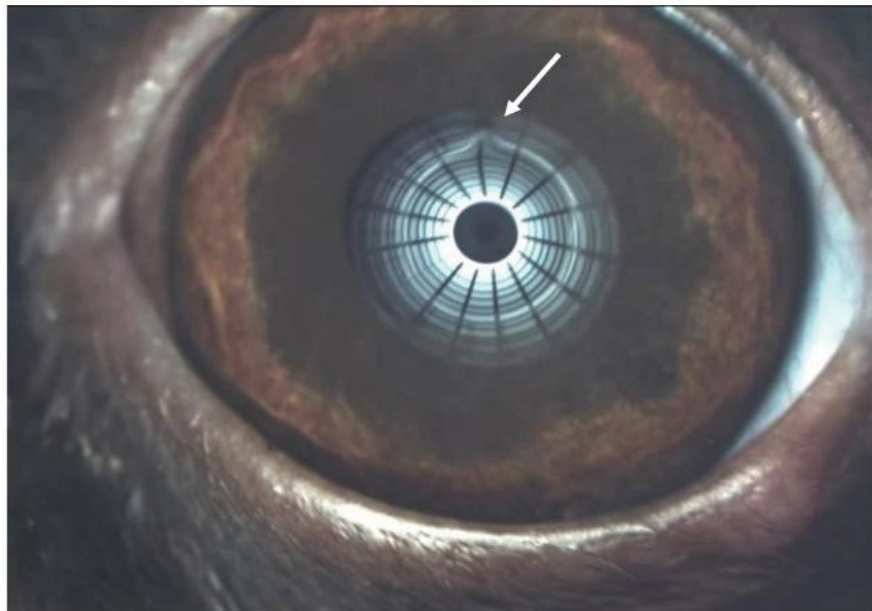


Fonte: O autor (2022).

O Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal Não Invasivo (TRFL-NI) é avaliado examinando os círculos e linhas de uma grade ou um disco plácido projetado sobre

padrões interferométricos. O tempo de piscar e a distorção inicial da grade não é influenciado pela administração de uma gota de fluoresceína como para TRFL. Na maioria dos casos, em animais, os movimentos contínuos dos olhos e da terceira pálpebra impedem a avaliação do TRFL-NI, embora a fissura palpebral seja mantida aberta (BAUDOIN, 2015). Para mensuração o intervalo de tempo desde a primeira abertura da pálpebra até o momento da primeira deformação, distorção ou quebra da imagem de grade refletidas na superfície da córnea é registrada em segundos, sendo valores normais $19,1 \pm 9,5$ segundos (KIM et al., 2022) (Figura 4).

Figura 4. Imagem demonstrando o exame de Tempo De Ruptura Do Filme Lacrimal Não Invasivo (TRFL-NI) no aparelho OSA-Vet®. Observe a seta branca demonstrando o local da quebra do filme lacrimal.



Fonte: O autor (2022).

A meibografia é aplicada para examinar a morfologia da glândula meibomiana. Com o uso do sistema de meibografia infravermelha (KITAMURA et al., 2020) as áreas da placa tarsal evertida das pálpebras superiores e inferiores são fotografadas por uma câmera infravermelha sem contato e não invasiva. A área da glândula meibomiana é destacada com linhas verdes pelo *software* integrado no OSA-Vet® e a taxa de perda da glândula meibomiana é calculada. A perda da glândula meibomiana é definida como a porcentagem de perda da glândula em relação à área tarsal total da pálpebra (VIGO et al., 2020; KIM et al., 2022).

A meibografia infravermelha sem contato revela as glândulas meibomianas dos olhos normais como áreas brancas, devido a presença do lipídio da glândula meibomiana. Os achados da morfologia anormal da glândula meibomiana incluem

encurtamento, ruptura, curvatura, expansão e perda parcial ou total do tecido glandular (VIÑAS et al., 2019; KITAMURA et al., 2020; SARTORI & PERUCCIO, 2020).

No *software* do OSA-Vet® as alterações morfológicas são classificadas em quatro graus com uma escala colorida: perda entre 0 e 25% (verde); perda entre 25 e 50% (amarelo); perda entre 50 e 75% (laranja); perda entre 75 e 100% (vermelho) (BAUDOIN, 2015).

Além da disposição e a funcionalidade das glândulas meibomianas a presença de alterações características de doenças das glândulas de meibomio, distíquiase ou cílios ectópicos em processo de formação também podem ser observados com o uso do aparelho (PERUCCIO, 2018).

Outros exames podem ser realizados com o aparelho como: classificação da vermelhidão ocular (imagem dos vasos sanguíneos da conjuntiva); pupilometria (medição da reação da pupila à luz com e sem ofuscamento; modo de medição: escotópico, mesópico e fotópico); e medição de branco a branco (avaliação do diâmetro da córnea de limbo a limbo) (GEORGE & MOHAN, 2019).

3 APLICAÇÃO DO OSA-VET® E OS TESTES LACRIMAIS QUALIQUANTITATIVOS EM CÃES BRAQUICEFÁLICOS COM E SEM CERATOCONJUNTIVITE SECA

Capítulo dedicado ao artigo “Aplicação do OSA-Vet® e os testes lacrimais qualiquantitativos em cães braquicefálicos com e sem ceratoconjuntivite seca”. O artigo segue as normas da revista *Veterinary Ophthalmology*.

APLICAÇÃO DO OSA-VET® E OS TESTES LACRIMAIS QUALIQUANTITATIVOS EM CÃES BRAQUICEFÁLICOS COM E SEM CERATOCONJUNTIVITE SECA

Jéssica N. Voitena^{1,2}, Tatiane O. C. Marinho², Fabiano Montiani-Ferreira³, Daniela N. Cremonini², João L.V. Chiurciu², Nadja S. Jesus⁴, Fábio L.C. Brito², Olicies da Cunha¹

Objetivo: O objetivo foi comparar os testes obtidos pelo aparelho OSA-Vet® com os testes de tiras convencionais na avaliação de cães braquicefálicos saudáveis e com ceratoconjuntivite seca.

Métodos: 45 cães, braquicefálicos, foram divididos em quatro grupos: G1, cães com TLS de 15 a 25 mm/min; G2, TLS: 11 - 14 mm/min; G3, TLS: 6 - 10 mm/min e G4, TLS: 0-5 mm/min. Todos os pacientes foram submetidos à avaliação oftalmológica na seguinte ordem: tempo de ruptura do filme lacrimal não invasivo (TRFL-NI - OSA-Vet®) altura do menisco lacrimal (AML-OSA-Vet®), meniscometria (*I-Tear*® test), teste lacrimal de Schirmer (TLS-1), avaliação clínica e tempo de ruptura do filme lacrimal com fluoresceína (TRFL). Foi realizado inicialmente análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Fisher para estabelecer a diferença entre os grupos dentro de cada teste. Em seguida, o teste de ANOVA para determinar o coeficiente de correlação de Pearson e a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os testes dentro de cada grupo.

Resultados: A correlação dos testes convencionais em relação aos obtidos pelo OSA-Vet® mostrou-se baixa, exceto entre TRFL-NI (OSA-Vet®) com TRFL no G3, com forte correlação ($r=0,925$). Na comparação entre TRFL-NI (OSA-Vet®) com TRFL no G2 a correlação foi moderada ($r=0,547$) assim como TLS-1 com *I-Tear*® test no G3 ($r=0,416$). Na comparação entre grupos nos testes TRFL e TRFL-NI (OSA-Vet®) houve diferença significativa entre todos os grupos com CCS comparados ao G1 (sem CCS).

Conclusão: Os testes de diagnóstico tanto no OSA-Vet® quando em tiras são úteis para avaliar a superfície ocular de cães braquicefálicos. Porém, o estudo mostrou que

¹Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor Palotina, Palotina, PR.

²Faculdade Qualittas, São Paulo, SP.

³Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR.

⁴ Discente da Universidade São Judas Tadeu, São Paulo, SP.

o OSA-Vet® auxilia no diagnóstico, mas não tem boa correlação com os testes convencionais já padronizados.

Palavras-chave: Meniscometria, Teste Lacrimal de Schirmer, Tempo de ruptura da lágrima, olho seco, *I-Tear*, qualitativa.

1 INTRODUÇÃO

A ceratoconjuntivite seca (CCS) ou síndrome do olho seco, é definida por produção diminuída de uma ou mais camadas do filme lacrimal, resultando em ressecamento e inflamação da conjuntiva e da córnea.^{1,2}

A CCS pode ser dividida em dois tipos: uma em que há produção insuficiente da camada aquosa do filme lacrimal - deficiência quantitativa; e outra em evaporação excessiva da lágrima - deficiência qualitativa, devido à produção inadequada de lipídios ou mucina.³⁻⁵

Vários são os testes disponíveis para o auxílio no diagnóstico de CCS além da avaliação clínica. Dentre eles, estão citados na literatura e divididos em quantitativos: o Teste Lacrimal de Schirmer (TLS), teste de meniscometria lacrimal, teste de lágrima do fio vermelho de fenol e teste de ponta de papel absorvente endodôntico; e qualitativos: tempo de ruptura do filme lacrimal (TRFL), osmolaridade lacrimal, teste da samambaia (*fernig test*), avaliação com corantes como rosa bengala ou lissamina verde.^{6,7}

O TLS tem sido uma técnica quantitativa eficaz e padrão ouro para avaliar a porção aquosa do filme lacrimal. A capacidade de quantificar a produção lacrimal em pacientes caninos auxilia no diagnóstico e manejo clínico da CCS.^{5,7-9}

O TRFL mede indiretamente a evaporação da lágrima¹⁰ e permite avaliar a estabilidade do filme lacrimal⁶ através das camadas de mucina e/ou lipídios do filme lacrimal, medindo o tempo para o corante de fluoresceína e, portanto, o filme lacrimal, se dissociar da superfície da córnea.¹¹

O aparelho *Ocular Surface Analyser – Vet* (OSA-Vet®, SBM Sistemi, Torino, Itália) tem o intuito de avaliar as glândulas de meibômio e o filme lacrimal de forma não invasiva, contribui no diagnóstico de pacientes com CCS, e avalia tanto a porção quantitativa quanto qualitativa da lágrima. Com o aparelho é possível realizar vários testes, como: interferometria (mensura a espessura da camada lipídica), altura do

menisco lacrimal (AML), meibografia, tempo de ruptura do filme lacrimal não-invasivo (TRFL-NI) e topografia da superfície ocular.¹²⁻¹⁴

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi comparar os parâmetros dos testes convencionais de tiras (TLS, *I-Tear*® test e TRFL) com as imagens obtidas pelo OSA-Vet® (AML e TRFL-NI) na avaliação de pacientes cães braquicefálicos hígidos e com ceratoconjuntivite seca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Comitê de Ética

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética Animal (CEUA) da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina (protocolo n° 06/2021) (ANEXO 1), de acordo com os princípios éticos da Guidelines for Ethical Research in Veterinary Ophthalmology (GERVO). O consentimento informado foi obtido de todos os proprietários.

2.2 Animais

Quarenta e cinco cães braquicefálicos, 30 fêmeas (66,66%) e 15 machos (33,33%) com idade entre oito meses e 18 anos (média $6,48 \pm 3,73$ anos) foram incluídos no estudo. Os critérios de inclusão foram cães braquicefálicos, que não estivessem em uso de medicamentos oculares ou alterações palpebrais importantes ausentes (entrópio, distiquíase, cílio ectópico, triquíase), além da ausência outras afecções oculares ou sistêmica. Foram excluídos do estudo pacientes com úlcera de córnea, pacientes não colaborativos aos testes e com TLS maior que 25mm/min.

2.3 Experimento

Os cães foram divididos em quatro grupos: G1: cães saudáveis com TLS 15 a 25mm/min; e cães com diferentes graus de CCS, G2: TLS 11 – 14mm/min (leve); G3: TLS 6 – 10mm/min (moderado); G4: TLS 0-5mm/min (grave). Todos os pacientes foram submetidos à avaliação oftalmológica nesta ordem, com intervalo de 10 minutos

entre cada teste: avaliação com OSA-Vet® (TRFL-NI e AML), meniscometria (*I-Tear*® test), TLS-1, avaliação oftálmica com lâmpada de fenda e TRFL (APÊNDICE 1).

Todos os exames oftalmológicos foram realizados pelo mesmo examinador e realizados em animais acordados, em ambos os olhos, com mínima contenção física e sem uso de medicações. A sala de exame estava sob as mesmas condições de temperatura 18,5°C–25,5°C e umidade média de 65%. O intervalo entre os testes foi de 10 minutos, para permitir que o fluido lacrimal se renovasse.¹⁵

2.3.1 Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal Não Invasivo (TRFL-NI)

A mensuração do TRFL-NI foi realizada por meio de vídeo, com o aparelho OSA-Vet®, utilizando um filtro plástico, inserido no aparelho, como orientado pelo fabricante. Este filtro promove círculos e linhas de grade que são utilizadas para visualização da quebra do filme lacrimal. O aparelho foi posicionado no olho do paciente e as pálpebras foram mantidas abertas após uma piscada voluntária. Realizou-se um vídeo de 30 segundos. Após a gravação sucedeu-se a mensuração do tempo de ruptura do filme lacrimal, que é feita manualmente avaliando o momento que as linhas de grade perdem sua conformação.

2.3.2 Altura do Menisco Lacrimal (AML)

A mensuração da AML foi realizada através de vídeo, com o aparelho OSA-Vet®, retirando o filtro plástico do aparelho utilizado no teste anterior. Foram executados três vídeos de 15 segundos cada. Após, a melhor imagem do menisco lacrimal, de cada vídeo, foi coletada e mensurada na sua região central. A partir destas três medidas, fez-se a média e o valor do menisco do paciente em questão foi computado em milímetros (mm).

2.3.3 Meniscometria (*I-Tear*® test)

Uma tira padrão *I-Tear*® test (I-Med Pharma Inc.) foi colocada em contato com o menisco lacrimal inferior central por cinco segundos, garantindo que a posição da pálpebra permanecesse neutra (ou seja, sem eversão manual) e evitando o contato

com a superfície corneconjuntival. As lágrimas são absorvidas por capilaridade no canal central da tira e as medições são registradas em mm/5s, imediatamente ao fim do tempo cronometrado.

2.3.4 Teste Lacrimal de Schirmer Tipo 1 (TLS-1)

O TLS foi realizado sem anestesia tópica. Uma tira padronizada de papel filtro (Ophthalmos®) foi colocada no saco conjuntival inferior lateral do olho e ali permaneceu por um minuto com o olho fechado. O comprimento da porção úmida foi então mensurado imediatamente após a remoção da tira e os resultados foram registrados em milímetros por minuto. Todas as tiras de TLS foram oriundas do mesmo número de lote na tentativa de evitar variação na absorção das tiras.

2.3.5 Teste de Ruptura do Filme Lacrimal com Fluoresceína (TRFL)

Uma gota de fluoresceína obtida com auxílio de uma tira convencional do teste e diluída com solução fisiológica foi instilada em um olho. Após a primeira piscada, as pálpebras foram mantidas abertas e a superfície corneana foi observada com aumento de 10X com filtro azul cobalto (biomicroscopia com lâmpada de fenda). O TRFL foi cronometrado com o tempo desde a abertura da pálpebra até o aparecimento de um ou mais pontos escuros no mesmo instante, no filme lacrimal verde fluorescente. O tempo foi registrado em segundos e, em seguida, o exame foi realizado da mesma forma no olho adelfo.

2.4 Análise estatística

Foi realizado inicialmente análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Fisher para estabelecer a diferença entre os grupos dentro de cada teste. Em seguida, o teste de ANOVA foi utilizado para determinar o coeficiente de correlação de Pearson e a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os testes dentro de cada grupo.

3 RESULTADOS

As raças de cães incluídas no estudo foram: Shih-Tzu (40%), Pug (22,2%), Lhasa Apso (13,3%), Buldogue Francês (13,3%), Buldogue inglês (2,22%), Cavalier (2,22%), Chihuahua (2,22%), Maltês (2,22%) e Pequinês (2,22%), totalizando 88 olhos.

A análise dos dados mostrou uma distribuição normal, portanto, os resultados estão apresentados como média \pm desvio padrão. Os resultados obtidos pelos testes convencionais bem como pelo OSA-Vet® nos cães sem ceratoconjuntivite seca (G1) estão listados na tabela 1. Pode-se observar valores médios de TLS-1, *I-Tear® test* e AML (OSA-Vet®) de $20,48 \pm 2,76$ mm/min, $7,64 \pm 3,00$ mm/5s e $0,51 \pm 0,17$ mm respectivamente. Nos testes TRFL e o TRFL-NI (OSA-Vet®) as médias foram $4,44 \pm 5,05$ s e $3,88 \pm 4,24$ s respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Média \pm desvio padrão das variáveis oftálmicas analisadas pelos testes oftálmicos convencionais e pelo equipamento OSA-Vet® em cães braquicefálicos saudáveis e com ceratoconjuntivite seca distribuídos em quatro grupos.

Variáveis	G1	G2	G3	G4
TLS-1 (mm/min)	$20,48 \pm 2,76$	$13,18 \pm 0,98$	$8,90 \pm 1,44$	$1,23 \pm 1,78$
<i>I-Tear® test</i> (mm/5s)	$7,64 \pm 3,00$	$6,72 \pm 3,84$	$4,81 \pm 3,65$	$2,41 \pm 4,06$
AML (OSA-Vet®) (mm)	$0,51 \pm 0,17$	$0,39 \pm 0,18$	$0,33 \pm 0,17$	$0,24 \pm 0,13$
TRFL (s)	$4,44 \pm 5,05$	$1,63 \pm 2,24$	$1,09 \pm 2,11$	$0,47 \pm 1,68$
TRFL-NI (OSA-Vet®) (s)	$3,88 \pm 4,24$	$1,18 \pm 2,18$	$0,63 \pm 2,11$	0 ± 0

Abreviações: TLS, Teste Lacrimal de Schirmer; AML, Altura do Menisco Lacrimal; TRFL, Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal; TRFL-NI, Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal Não Invasivo; OSA-Vet® *Ocular Surface Analyser – Vet* (Analisador de Superfície Ocular Veterinário); G1, Grupo 1; G2, Grupo 2; G3, Grupo 3; G4, Grupo 4.

Em relação aos grupos com vários graus de CCS, (G2, G3 e G4), observa-se os valores médios do *I-Tear® test* no G2 foi $6,72 \pm 3,84$ mm/5s, no G3 foi $4,81 \pm 3,65$ mm/5s e em G4 foi $2,41 \pm 4,06$ mm/5s. Relacionado ao teste AML (OSA-Vet®) os valores médios foram no G2: $0,39 \pm 0,18$ mm, no G3: $0,33 \pm 0,17$ mm e no G4 $0,24 \pm 0,13$ mm. Os testes de avaliação da qualidade lacrimal, TRFL e TRFL-NI (OSA-Vet®), os valores médios em cada grupo foram, no G2 foi $1,63 \pm 2,24$ s e $1,18 \pm 2,18$ s respectivamente, no G3 foi $1,09 \pm 2,11$ s e $0,63 \pm 2,11$ s respectivamente e nota-se em G4 o valor médio de TRFL foi $0,47 \pm 1,68$ s e no teste TRFL-NI (OSA-Vet®) valor médio foi 0 ± 0 (Tabela 1 e Figura 1).

No teste *I-Tear® test* houve diferença significativa entre os grupos G1-G4, G1-G3, G2-G4. Na AML (OSA-Vet®) houve diferença significativa entre os grupos G1-G4, G1-G3, G1-G2 e G2-G4. Com relação ao TRFL e TRFL-NI (OSA-Vet®) ambos os testes apresentaram diferença significativa entre os grupos G1-G4, G1-G3 e G1-G2.

No tocante aos dados da correlação intertestes, de acordo com o Coeficiente de Correlação de Pearson (r), entre TLS-1 x AML (OSA-Vet®) observou-se uma correlação bem fraca nos grupos G1(0,15) e G2(0,046) e fraca no G3(0,32) e G4 (0,257). Na correlação entre *I-Tear® test* x AML (OSA-Vet®) observou-se correlação fraca no G1(0,21) e bem fraca no G2(0,185), G3 (0,127) e G4(0,151). Na correlação entre TLS-1 x *I-Tear® test*, nota-se correlação fraca no G1 (0,24), bem fraca no G2(0,012) e G3 (0,053) e moderada no G4(0,416) (Figura 2). Por fim, na correlação entre TRFL-NI (OSA-Vet®) x TRFL, verificou-se correlação moderada em G1(0,547) (Figura 3), fraca em G2(0,239) e muito forte em G3(0,925) (Figura 4). Relacionado ao G4, não foi possível realizar a correlação devido o valor do TRFL-NI(OSA-Vet®) ter sido zero (Tabela 2).

Tabela 2. Descrição do Coeficiente de Correlação de Pearson (r) por grupo e entre os testes em cães braquicefálicos saudáveis e com ceratoconjuntivite seca.

	G1	G2	G3	G4
TLS-1 x AML (OSA-Vet®)	0,15 ($p=$.3151)	0,046($p=$.8921)	0,32($p=$.338)	0,257 ($p=$.3196)
<i>I-Tear® test</i> x AML (OSA-Vet®)	0,21($p=$.1658)	0,185($p=$.5866)	0,127($p=$.7089)	0,151 ($p=$.5638)
TLS-1 x <i>I-Tear® test</i>	0,24 ($p=$.1129)	0,012($p=$.972)	0,053($p=$.8763)	0,416 ($p=$.0964)
TRFL-NI (OSA-Vet®) x TRFL	0,547 ($p=$.0001)	0,239($p=$.4791)	0,925 ($p=$ <.0001)	-

Abreviações: TLS, Teste Lacrimal de Schirmer; AML, Altura do Menisco Lacrimal; TRFL, Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal; TRFL-NI, Tempo de Ruptura do Filme Lacrimal Não Invasivo; OSA-Vet® *Ocular Surface Analyser – Vet* (Analisador de Superfície Ocular Veterinário); G1, Grupo 1; G2, Grupo 2; G3, Grupo 3; G4, Grupo 4; ($p<0,05$: diferença significativa entre os grupos).

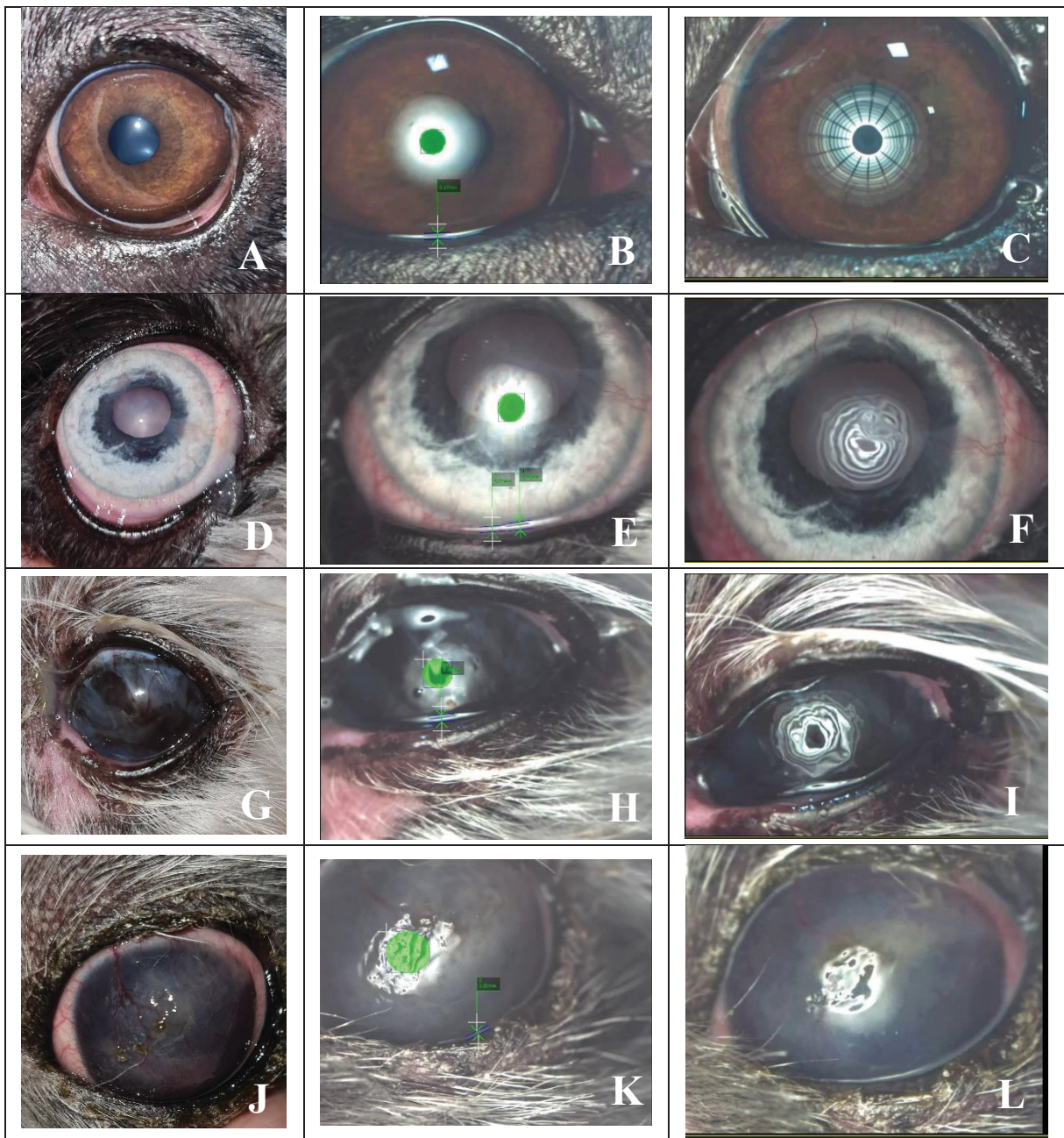


Figura 1. Imagem representando os olhos e seus respectivos testes com o aparelho OSA-Vet® nos grupos G1 (A, B e C), G2 (D, E e F), G3 (G, H e I) e G4 (J, K, L). Foto do olho de cão, braquicefálico inserido no estudo em cada grupo (A, D, F, G), demonstração da mensuração da meniscometria com OSA- Vet® (B, E, H, K), imagem do exame TRFL-NI com o OSA- Vet® (C, F, I, L).

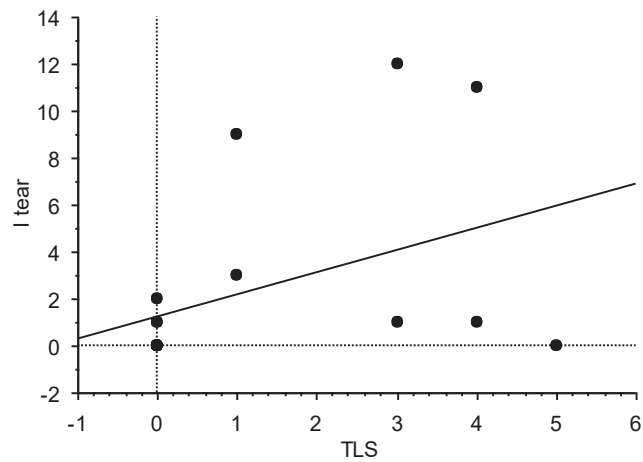


Figura 2. Associação positiva e correlação moderada entre o *I-Tear*® test e TLS em cães braquicéfalos com CCS grave (G4). (Pearson's correlation $r = 0,416$; $p = 0.0964$).

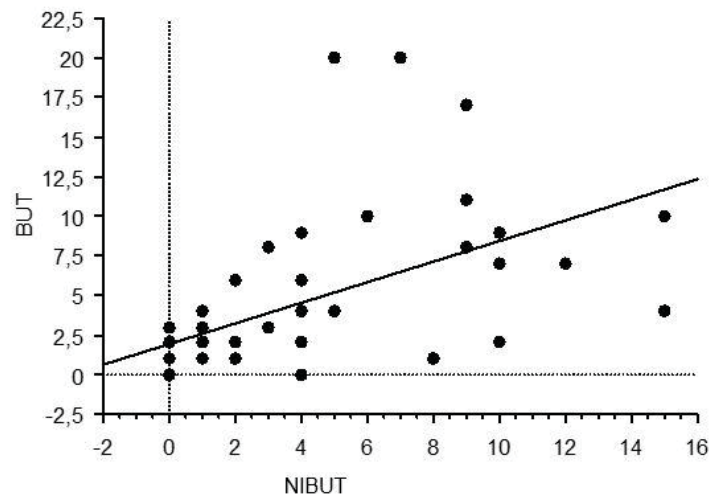


Figura 3. Associação positiva entre tempo de ruptura do filme lacrimal convencional (TRFL) e pelo aparelho OSA-Vet® (TRFL-NI) em cães braquicéfalos sem CCS (G1) (Pearson's correlation $r = 0.547$; $p = 0.0001$).

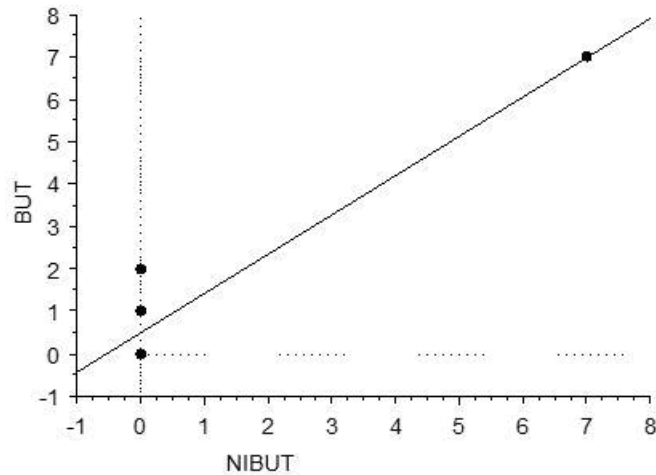


Figura 4. Associação positiva e correlação muito forte entre tempo de ruptura do filme lacrimal convencional (TRFL) e pelo aparelho OSA-Vet® (TRFL-NI) em cães braquicéfalos com CCS moderada (G3). (Pearson's correlation $r = 0,925$; $p = <.0001$).

4 DISCUSSÃO

Para os cães sem CCS o TLS foi $20,48 \pm 2,76$ mm/min corroborando com o descrito na literatura $18,89 \pm 2,62$ a $21,7 \pm 4,9$ mm/min,¹⁶⁻¹⁸ já o *I-Tear*® test foi $7,64 \pm 3,00$ mm/5s mostrando-se semelhante ao relatado na literatura ($7,4 \pm 2,0$ mm/5s).¹⁹ Outros estudos avaliaram cães sem CCS e os resultados obtidos foram maiores, variando entre 9 e 10 mm/5s.^{5,7,20} Entretanto, em nosso estudo foram avaliadas somente raças braquicefálicas, e estes incluíram cães de diversas raças. Um dos fatores que pode estar relacionado a essa diferença do *I-Tear*® test em pacientes sem CCS quantitativa, é que o *I-Tear*® test não promove indução do reflexo lacrimal como o TLS e, por se tratar, de cães braquicefálicos com predisposição à CCS, esses valores diferiram.^{5,20}

Na AML (OSA-Vet®) cães sem CCS apresentaram um valor de $0,51 \pm 0,17$ mm, assemelhando-se ao valor de referência disponível pela empresa desenvolvedora do aparelho. Em cães da raça Beagles, com TLS normal, o valor padrão determinado da AML foi $0,41 \pm 0,21$ mm¹⁴, mostrando-se abaixo do valor encontrado no nosso estudo, porém trata-se de uma raça não braquicefálica. Faz-se necessário mais estudos para estabelecer parâmetros relacionados a esse teste, pois pode haver diferença entre as

raças a depender da conformação anatômica, o que justificaria a diferença entre o resultado do estudo com Beagle¹⁴ e o nosso estudo.

A meniscometria em tira tem a vantagem pela rápida execução do procedimento, ou seja, cinco segundos por olho. Porém, para melhorar a especificidade, a meniscometria com a tira deve ser combinada com outros métodos de exame, como o TLS por exemplo.²¹ Quando correlacionados, o TLS com *I-Tear® test* apenas os pacientes com olho seco grave apresentaram uma correlação moderada, sendo fraca dentro dos demais grupos. Os estudos mostraram que existe forte correlação entre o TLS e o *I-Tear® test* em cães com CCS.^{5,7} Esta correlação apresenta-se de forma crescente de acordo com o aumento da gravidade da deficiência lacrimal, justificando a correlação mais forte no G4 do nosso estudo. Outro estudo relata correlação positiva fraca entre estes testes.²⁰ Porém, estes trabalhos que correlacionaram o TLS e o *I-Tear® test* contemplavam várias raças, não apenas braquicefálicos como o nosso trabalho. Por meio do nosso trabalho evidenciamos que mesmo tratando-se de cães braquicefálicos não é possível usar apenas o *I-Tear® test* para diagnóstico de CCS quantitativa.

No nosso estudo a correlação dentro dos grupos, entre TLS e a AML pelo aparelho OSA-Vet® mostrou-se fraca, corroborando a literatura.¹⁴

Quando verificamos a comparação entre grupos nos testes *I-Tear® test* e AML, observou-se diferença significativa de todos os grupos comparados ao G1. Nos diversos tipos de CCS, a quantidade de lágrima é baixa ou muito baixa e a de muco alta, podendo interferir na absorção por capilaridade no *I-Tear® test* e na mensuração da AML. Estudo semelhante comparando o *I-Tear® test* com TLS em humanos demonstrou que houve diferença significativa entre os resultados nos pacientes com CCS comparado com olhos saudáveis, e atribuiu o resultado à diminuição do menisco estar ligada a diminuição da secreção lacrimal, já que esse teste avalia a quantidade de lágrima.²¹

Ainda no que concerne às comparações entre *I-Tear® test* e AML, houve diferença entre o G2 e G4, ou seja, de CCS leve e grave. Isso ocorre provavelmente porque nos cães com CCS grave a quantidade de água é muito inferior ao grupo com CCS leve, o que interfere na absorção do *I-Tear® test* e na qualidade da imagem no aparelho para mensuração da altura do menisco lacrimal, quando comparado ao cão com quantidade de lágrima muito próxima ao normal.

No nosso estudo os resultados obtidos ficaram abaixo dos valores de referência, ($4,44 \pm 5,05s$ e $3,88 \pm 4,24s$) para os testes de TRFL e TRFL-NI (OSA-Vet®), respectivamente, nos cães com TLS normal. Em outros estudos pode-se observar o mesmo comportamento dos dados quando obtiveram valores de $5,3 \pm 2,4s$ do TRFL em cães da raça ShihTzu²², e $6 \pm 2s$ e $5,4 \pm 1,9s$ para olho direito e olho esquerdo, respectivamente, em raças braquicefálicas.¹⁷ A avaliação realizada exclusivamente em cães da raça Pug, os valores encontrados foram acima dos encontrados no nosso estudo.^{23,24} Todavia, os critérios de inclusão dos animais foram diferentes do realizado em nosso estudo, pois foram incluídos cães CCS leve (TLS acima de 10mm/min). Assim, verifica-se que braquicefálicos apresentam valores relacionados a qualidade lacrimal menor que o referido na literatura, em que o tempo médio do TRFL varia de $19,7 \pm 5s$ a $21,53 \pm 7,42s$.¹¹ Essa variação pode estar ligada a fatores como interpretação do examinador, por ser um teste subjetivo, fatores ambientais (temperatura e umidade local), e no caso do TRFL ao volume de fluoresceína utilizado.²⁵

Verificou-se no G3 que os testes TRFL e TRFL-NI (OSA-Vet®) apresentaram correlação muito forte o que nos possibilita afirmar que existe uma possibilidade de substituir o teste convencional pelo realizado no aparelho em pacientes com CCS moderada. Todavia, nos outros grupos os dados não apresentaram o mesmo comportamento, o que dificulta inferir a substituição em todas as situações. Alguns fatores podem estar relacionados com essa divergência de correlação como colaboração do paciente no momento da realização do teste e interpretação do executor. Ainda são escassos os estudos relacionados ao teste TRFL-NI (OSA-Vet®) para comparar resultados, o que ressalta a necessidade de mais estudos relacionados ao uso deste aparelho no que tange à avaliação qualitativa da lágrima.

Por outro lado, quando estabelecida a comparação entre grupos, os resultados são bem promissores, em relação ao uso do aparelho para avaliação qualitativa da lágrima. Observou-se que dentre os grupos com CCS não houve diferença significativa, portanto o TRFL ou o TRFL-NI (OSA-Vet®) resultaram em alteração, independente do grau de CCS em cães braquicefálicos. Esse resultado é esperado independente do grau de CCS devido a muitas propriedades da mucina estarem anormais em cães com CCS, em razão da diminuição da densidade de células calciformes conjuntivais e alteração da expressão de mucina e glicosilação, causando

acúmulo de muco e alteração nessas vias de produção de mucina, e conseqüentemente, piorando a CCS quantitativa.²⁶ Isso ocorre, em virtude de a mucina agir como interface entre o epitélio corneano hidrofóbico e o fluido lacrimal aquoso.¹⁶ De forma diferente, quando comparados os graus de olho seco com o grupo de cães sem CCS quantitativa, houve diferença significativa. Porém, mesmo com diferença, os valores obtidos no nosso trabalho foram abaixo do que a literatura considera TRFL normal em cães. Os resultados encontrados no nosso trabalho assemelharam-se aos encontrados em outros estudos em que foram avaliados cães braquicefálicos, reafirmando que esse grupo racial possui TRFL diminuído mesmo sem CCS quantitativa.^{22,27,28}

Os resultados encontrados no nosso trabalho nos testes TRFL ou o TRFL-NI (OSA-Vet®) evidenciaram a relevância do diagnóstico do olho seco qualitativo em cães braquicefálicos e, conseqüentemente, a importância do tratamento, para evitar e/ou protelar que a CCS qualitativa desencadeie CCS quantitativa a longo prazo.²⁸⁻³⁰

Uma vantagem em relação a realização do TRFL-NI (OSA-Vet®) é não haver interferência de fatores que podem trazer resultado equivocado no momento do exame como, por exemplo, volume e/ou concentração de fluoresceína que podem diferir trazendo baixa confiabilidade do TRFL.^{17,18,28} Contudo, a interpretação do exame no aparelho depende do examinador, por ser feito manualmente, o que interfere também no resultado sendo uma desvantagem do OSA-Vet®.

Em relação ao aparelho OSA-Vet®, algumas dificuldades foram encontradas durante os exames, como por exemplo, nos pacientes mais agitados houve dificuldade na obtenção das imagens, o que demandou mais tempo para coleta dos dados. Mesmo tendo boa correlação entre os testes TRFL e TRFL-NI (OSA-Vet®) nos grupos G1 e G3, para a avaliação da qualidade do filme lacrimal, no G2 houve correlação fraca entre estes testes, evidenciando que há necessidade de mais estudos para comprovar se é possível fazer a substituição do teste convencional (TRFL) pelo realizado no aparelho OSA-Vet®.

Em conclusão, os resultados deste estudo demonstraram que ainda não é possível substituir os testes convencionais pelo aparelho OSA-Vet®, e sim utilizá-lo como um adjuvante no diagnóstico de CCS. Tratando-se de CCS qualitativa em cães braquicefálicos, como observado, houve resultados relevantes relacionado aos testes TRFL e TRFL-NI (OSA-Vet®) em pacientes com e sem CCS, demonstrando a

importância da avaliação da qualidade lacrimal. Aponta-se que são necessários mais estudos utilizando esse aparelho e a necessidade de padronização de valores de referência para as diferentes raças.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. Herrera HD, Weichsler N, Gómez JR, De Jalón JAG. Severe, unilateral, unresponsive keratoconjunctivitis sicca in 16 juvenile Yorkshire Terriers. *Vet Ophthalmol.*2007;10(5):285-288.
2. de Oliveira JK, Williams DL, Bollmann C, de Seabra NM, Bortolini M, Montiani-Ferreira F. Comparative efficacy of topical oclacitinib 0.1% and tacrolimus 0.01% in canine keratoconjunctivitis sicca. *Vet Ophthalmol.*2019;22(5):633-643.
3. Berdoulay A, English RV, Nadelstein B. Effect of topical 0.02% tacrolimus aqueous suspension on tear production in dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Vet Ophthalmol.*2005;8(4):225-232.
4. Williams DL. Immunopathogenesis of keratoconjunctivitis sicca in the dog. *Vet. Clin. North Am.*2008;38(2):251-268.
5. Nascimento FF, Passareli JVGC, Zulim LFDC, Silva DA, Giuffrida R, Estanho GJG, Andrade SF. Comparison of strip meniscometry and Schirmer tear test results and tear film breakup time between healthy dogs and dogs with dry eye disease. *Arq. Bras. Oftalmol.* 2022.
6. Barabino S, Chen W, Dana MR. Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: uses and limitations. *Exp. Eye Res,*2004;79(5):613-621.
7. Miyasaka K, Kazama Y, Iwashita H, Wakaiki S, Saito A. A novel strip meniscometry method for measuring aqueous tear volume in dogs: Clinical correlations with the Schirmer tear and phenol red thread tests. *Vet Ophthalmol.*2019;22(6): 864-871.
8. Hartley C, Williams DL, Adams VJ. Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. *Vet Ophthalmol.*2006;9(1):53-57.
9. Visser HE, Tofflemire KL, Love-Myers KR, Allbaugh RA, Ellinwood NM, Dees DD, Whitley RD. Schirmer tear test I in dogs: results comparing placement in the ventral vs. dorsal conjunctival fornix. *Vet Ophthalmol.*2017;20(6):522-525.

10. Segev F, Geffen N, Galor A, Cohen Y, Gefen R, Belkin A, Harris A. Dynamic assessment of the tear film muco-aqueous and lipid layers using a novel tear film imager (TFI). *Br J Ophthalmol.*2020;104(1):136-141.
11. Featherstone HJ, Heinrich CL. Ophthalmic examination and diagnostics. In: Gelatt KA, ed. *Veterinary Ophthalmology*. 6th ed. John Wiley & Sons, Inc; 2021:564-777, c.10.
12. George R, Mohan P. Ocular surface analyzer. *Kerala J. Ophthalmol.*2019;31:72-74.
13. Totuk ÖMG, Kabadayı K, Özkapı C, Aykan Ü. Efficacy of Intense Pulsed Light Treatment for Moderate to Severe Acute Blepharitis or Blepharoconjunctivitis: A Retrospective Case Series. *Turk J Ophthalmol.*2021;51(2):89.
14. Kim Y, Kang S, Kim S, Shim J, Go S, Seo K. Reference values for selected dry eye tests in normal Beagle dogs: a pilot study. *J. Vet. Sci.*2022;23(1).
15. Sebbag L, Allbaugh RA, Wehrman RF, Uhl LK, Ben-Shlomo G, Chen T, Mochel JP. Fluorophotometric assessment of tear volume and turnover rate in healthy dogs and cats. *J Ocul Pharmacol Ther.*2019;35(9)497-502.
16. Lima AMV, Chaves NST, Do Amaral AVC, Moraes JM, Alves CEF. Produção lacrimal e densidade de células caliciformes conjuntivais em cães da raça Shih-Tzu. *Ci. Anim. Bras.* 2008;12(2): 353-358.
17. Faghihi H, Rajaei SM. Tear film breakup time and Schirmer tear test in normal dogs: effects of age, sex, reproductive status, skull type, and nasolacrimal duct patency. *Vet Ophthalmol.* 2022;00:1–9.
18. Iwashita H, Sebbag L, Leonard BC, & Saito A. A review of diagnostic tests for qualitative and quantitative tear film deficiency in dogs. *Vet Ophthalmol.* 2022.
19. Bolzanni H, Oriá AP, Raposo ACS, & Sebbag L. Aqueous tear assessment in dogs: Impact of cephalic conformation, inter-test correlations, and test-retest repeatability. *Vet Ophthalmol.* 2020;23(3):534-543.
20. Rajaei SM, Ansari Mood M, Asadi F, Rajabian MR, Aghajanzpour L. Strip meniscometry in dogs, cats, and rabbits. *Vet Ophthalmol.*2018;21(2):210-213.
21. Schulze K, Großjohann R, Paul S, Bossaller L, Tost F. Streifenmeniskometrie und Schirmer-Test Vergleichende Betrachtung in der Diagnostik des trockenen Auges. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 2020.
22. Sebbag L, Silva APS, Santos ÁP, Raposo ACS, Oriá AP. An eye on the Shih Tzu dog: Ophthalmic examination findings and ocular surface diagnostics. *Vet Ophthalmol*, 2022.

23. Arnold TS, Wittenburg LA, & Powell CC. Effect of topical naltrexone 0.3% on corneal sensitivity and tear parameters in normal brachycephalic dogs. *Vet Ophthalmol.*2014;17(5):328-333.
24. Labelle AL, Dresser CB, Hamor RE, Allender MC, & Disney JL. Characteristics of, prevalence of, and risk factors for corneal pigmentation (pigmentary keratopathy) in Pugs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2013;243(5):667-674.
25. Seyer LD, Wills RW, & Betbeze CM. Investigation of fluorescein stain–based tear film breakup time test reliability in dogs in a clinical setting. *Am. J. Vet. Res.*2021;82(12):1019-1025.
26. Davidson HJ, Kuonen VJ. The tear film and ocular mucins. *Vet Ophthalmol.*2004; 7(2):71-77.
27. Sebbag, L, Sanchez, RF. The pandemic of ocular surface disease in brachycephalic dogs: The brachycephalic ocular syndrome. *Vet Ophthalmol.* 2022.
28. Moore CP, McHugh JB, Thorne JG, Phillips TE. Effect of cyclosporine on conjunctival mucin in a canine keratoconjunctivitis sicca model. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2001; 42: 653–659.
29. Voitena JN, Cunha O, Fukushima FB, Carvalho GF, Ramos LCS, Henriques C, Costa DMB. Eficácia dos colírios ciclosporina e tacrolimo no tratamento de ceratoconjuntivite seca em cães. *Arq. Bras. Med. Vet.* 2018;70:699-703.
30. Hisey EA, Galor A, Leonard BC. A comparative review of evaporative dry eye disease and meibomian gland dysfunction in dogs and humans. *Vet Ophthalmol.* 2023; 00:1-15.

REFERÊNCIAS

- ABLAMOWICZ, A. F.; NICHOLS, J. J. Ocular surface membrane-associated mucins. **The ocular surface**, v. 14, n. 3, p. 331-341, 2016.
- ACTON, A. E.; BEALE, A. B.; GILGER, B. C.; & STOSKOPF, M. K. Sustained release cyclosporine therapy for bilateral keratoconjunctivitis sicca in a red wolf (*Canis rufus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, p. 562-564, 2006.
- AGUILAR, A. J. La hiperosmolaridad del film lagrimal en el ojo seco. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 71, p. 69-71, 2008.
- ALBERTSMEYER, A. C.; KAKKASSERY, V.; SPURR-MICHAUD, S., BEEKS, O., & GIPSON, I. K. Effect of pro-inflammatory mediators on membrane-associated mucins expressed by human ocular surface epithelial cells. **Experimental eye research**, v. 90, n. 3, p. 444-451, 2010.
- ARGUESO, P., GIPSON, I.K. Epithelial mucins of the ocular surface: structure, biosynthesis and function. **Experimental eye research**. v.73, p.281–289,2001.
- BARABINO, S.; CHEN, W.; & DANA, M. R. Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: uses and limitations. **Experimental eye research**, v. 79, n. 5, p. 613-621, 2004.
- BAUDOIN, C. Un nouveau schéma pour mieux comprendre les maladies de la surface oculaire. **Societe Francasie d'Optalmologie**, v. 30, n. 3, p. 239-246, 2007.
- BAUDOIN, C. Ocular surface. **Societe Francasie d'Optalmologie**. p.1-8. 2015.
- BERDOULAY, A.; ENGLISH, R. V.; & NADELSTEIN, B. Effect of topical 0.02% tacrolimus aqueous suspension on tear production in dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n. 4, p. 225-232, 2005.
- BERGER, S. L.; KING, V. L. The fluctuation of tear production in the dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 34, n. 1, p. 79-83, 1998.
- BRITO, F. L. D. C.; VOITENA, J. N., MARINHO; T. O., MOORE, B. A.; & MONTIANI-FERREIRA, F. Assessment of tear film osmolarity using the IPen® Vet osmometer in Pug and Shih-Tzu dogs with and without keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v. 25, n. 3, p. 219-224, 2022.
- BRON, A. J.; DE PAIVA, C. S.; CHAUHAN, S. K., BONINI, S.; GABISON, E. E.; JAIN, S.; KNOP, E.; MARKOULLI, M.; OGAWA, Y.; PEREZ, V.; UCHINO, Y.; YOKOI, N.; ZOUKHRI, D.; SULLIVAN, D. A. **TFOS DEWS II Pathophysiology report. The ocular surface**, v. 15, n. 3, p. 438-510, 2017.
- BUTOVICH, I. A. Meibomian glands, meibum, and meibogenesis. **Experimental eye research**, v. 163, p. 2-16, 2017.

CHER, I. Fluids of the ocular surface: concepts, functions and physics. **Clinical & Experimental Ophthalmology**, v. 40, n. 6, p. 634-643, 2012.

CRAIG, J. P.; NICHOLS, K. K.; AKPEK, E. K.; CAFFERY, B.; DUA, H. S.; JOO, C. K.; ... & STAPLETON, F. **TFOS DEWS II definition and classification report. The ocular surface**, v. 15, n. 3, p. 276-283, 2017.

DARTT, D. A. Control of mucin production by ocular surface epithelial cells. **Experimental eye research**, v. 78, n. 2, p. 173-185, 2004.

DARTT, D. A.; & WILLCOX, M. D. P. Complexity of the tear film: importance in homeostasis and dysfunction during disease. **Experimental eye research**, v. 117, p. 1, 2013.

DAVIDSON, H. J.; KUONEN, V. J. The tear film and ocular mucins. **Veterinary Ophthalmology**, v. 7, n. 2, p. 71-77, 2004.

DOGRU, M.; ISHIDA, K.; MATSUMOTO, Y.; GOTO, E.; ISHIOKA, M.; KOJIMA, T.; ... & TSUBOTA, K. Strip meniscometry: a new and simple method of tear meniscus evaluation. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 47, n. 5, p. 1895-1901, 2006.

FEATHERSTONE, H.J.; HEINRICH, C.L. Ophthalmic examination and diagnostics. Part 1: the eye examination and diagnostic procedures In: Gelatt, K. N.; Ben-Shlomo, G.; Gilger, B. C.; Hendrix, D. V.; Kern, T. J.; & Plummer, C. E. **Veterinary Ophthalmology**, 6th ed. John Wiley & Sons, Inc, Iowa, USA, 2021. p. 564-661.

FORNAZARI, G.; FERREIRA, T. A. C.; SANTIN, E.; PANISSON, J. C.; MAIORKA, A.; & MONTIANI-FERREIRA, F. Schirmer's I, modified Schirmer's I, phenol red thread, and paper point tests: a comparative study for tear production measurement techniques in broiler chicks (*Gallus gallus domesticus*). **Poultry science**, v. 97, n. 9, p. 3258-3263, 2018.

GEORGE, R.; MOHAN, P. Ocular surface analyzer. **Kerala Journal of Ophthalmology**. V.31, p.72-74, 2019.

GIPSON, I. K.; HORI, Y.; ARGÜESO, P. Character of ocular surface mucins and their alteration in dry eye disease. **The ocular surface**, v. 2, n. 2, p. 131-148, 2004.

GIULIANO, E.A. Diseases and surgery of the canine lacrimal secretory system. In: Gelatt, K. N.; Ben-Shlomo, G.; Gilger, B. C.; Hendrix, D. V.; Kern, T. J.; & Plummer, C. E. **Veterinary Ophthalmology**, 6th ed. John Wiley & Sons, Inc, Iowa, USA, 2021. p. 564-661.

GÜRKAN, T.; HAYAT, A. Evaluation of the Schirmer and phenol red thread tests for measuring tear secretion in rabbits. **The Veterinary Record**, v. 156, p. 485-487, 2005.

HAEUSSLER JR, D. J. Improving the diagnosis of canine keratoconjunctivitis sicca. **The Veterinary Record**, v. 184, n. 22, p. 676, 2019.

HARTLEY, C.; WILLIAMS, D. L.; & ADAMS, V. J. Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 1, p. 53-57, 2006.

HAYAT, A.; & BIRICIK, H. S. Measurement of tear secretion in healthy pigeons by using the phenol red thread test. **Veterinary Record**, v. 175, n. 23, p. 594-594, 2014.

HENDRIX, D. V.; ADKINS, E. A.; WARD, D. A.; STUFFLE, J.; & SKOROBOHACH, B. An investigation comparing the efficacy of topical ocular application of tacrolimus and cyclosporine in dogs. **Veterinary Medicine International**, v. 2011, 2011.

HOLLY F. J.; LEMP M. A. Tear physiology and dry eyes. **Survey of Ophthalmology**. v.22, p. 69-87, 1977.

HODGES, R. R.; DARTT, D. A. Tear film mucins: front line defenders of the ocular surface; comparison with airway and gastrointestinal tract mucins. **Experimental eye research**, v. 117, p. 62-78, 2013.

IBRAHIM, O. M.; DOGRU, M.; WARD, S. K.; MATSUMOTO, Y.; WAKAMATSU, T. H.; ISHIDA, K.; ... & TSUBOTA, K. The efficacy, sensitivity, and specificity of strip meniscometry in conjunction with tear function tests in the assessment of tear meniscus. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 52, n. 5, p. 2194-2198, 2011.

IZCI, C.; CELIK, I.; ALKAN, F.; OGURTAN, Z.; CEYLAN, C.; SUR, E.; & OZKAN, Y. Histologic characteristics and local cellular immunity of the gland of the third eyelid after topical ophthalmic administration of 2% cyclosporine for treatment of dogs with keratoconjunctivitis sicca. **American Journal Of Veterinary Research**, v. 63, n. 5, p. 688-694, 2002.

IZCI, C.; CELIK, I.; ALKAN, F.; EROL, M.; & SUR, E. Clinical and light microscopic studies of the conjunctival tissues of dogs with bilateral keratoconjunctivitis sicca before and after treatment with topical 2% cyclosporine. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 90, n. 3, p. 223-230, 2015.

JACKSON, M. A.; BURRELL, K.; GADDIE, I. B.; & RICHARDSON, S. D. Efficacy of a new prescription-only medical food supplement in alleviating signs and symptoms of dry eye, with or without concomitant cyclosporine A. **Clinical Ophthalmology**, v. 5, p. 1201, 2011.

JULIO, G.; LLUCH, S.; PUJOL, P.; & MERINDANO, M. D. Effects of tear hyperosmolarity on conjunctival cells in mild to moderate dry eye. **Ophthalmic and Physiological Optics**, v. 32, n. 4, p. 317-323, 2012.

KIM, Y.; KANG, S.; KIM, S.; SHIM, J.; GO, S.; & SEO, K. Reference values for selected dry eye tests in normal Beagle dogs: a pilot study. **Journal of Veterinary Science**, v. 23, n. 1, 2022.

KITAMURA, Y.; ARITA, R.; MIWA, Y.; IWASHITA, H.; & SAITO, A. Histopathologic changes associated with Meibomian Gland dropout in a dog. **Veterinary Ophthalmology**, v. 23, n. 3, p. 575-578, 2020.

KNOP, E.; KNOP, N.; MILLAR, T.; OBATA, H.; & SULLIVAN, D. A. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 52, n. 4, p. 1938-1978, 2011.

LAMKIN, I. D.; ZIMMERMAN, K. L.; SMITH FLEMING, K. M.; & MARTINS, B. C. Osmolarity of basal and reflex tears of normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 23, n. 4, p. 747-753, 2020.

LANGE, R. R.; LIMA, L.; & MONTIANI-FERREIRA, F. Measurement of tear production in black-tufted marmosets (*Callithrix penicillata*) using three different methods: modified Schirmer's I, phenol red thread and standardized endodontic absorbent paper points. **Veterinary Ophthalmology**, v. 15, n. 6, p. 376-382, 2012.

LIMA, L.; LANGE, R. R.; TURNER-GIANNICO, A.; & MONTIANI-FERREIRA, F. Evaluation of standardized endodontic paper point tear test in New Zealand white rabbits and comparison between corneal sensitivity followed tear tests. **Veterinary Ophthalmology**, v. 18, p. 119-124, 2015.

MENAKA, R.; & PURI, G. Role of lacrimal gland in tear production in different animal species. A Review. **International Journal of Livestock Research**, v. 3, p. 40-42, 2015.

MESSMER, E. M. The pathophysiology, diagnosis, and treatment of dry eye disease. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 112, n. 5, p. 71, 2015.

MCKENZIE, R. W.; JUMBLATT, J. E.; JUMBLATT, M. M. Quantification of MUC2 and MUC5AC transcripts in human conjunctiva. **Investigative Ophthalmology**. v.41, p.703–708, 2000.

MIYASAKA, K.; KAZAMA, Y.; IWASHITA, H.; WAKAIKI, S.; & SAITO, A. A novel strip meniscometry method for measuring aqueous tear volume in dogs: Clinical correlations with the Schirmer tear and phenol red thread tests. **Veterinary Ophthalmology**, v. 22, n.6, p. 864-871, 2019.

MOLINA-LEYVA, I.; MOLINA-LEYVA, A.; & BUENO-CAVANILLAS, A. Efficacy of nutritional supplementation with omega-3 and omega-6 fatty acids in dry eye syndrome: a systematic review of randomized clinical trials. **Acta ophthalmologica**, v. 95, n. 8, p. e677-e685, 2017.

NASCIMENTO, F. F.; PASSARELI, J. V. G. C.; ZULIM, L. F. D. C.; SILVA, D. A.; GIUFFRIDA, R.; ESTANHO, G. J. G.;... & ANDRADE, S. F. Comparison of strip meniscometry and Schirmer tear test results and tear film breakup time between healthy dogs and dogs with dry eye disease. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, 2022.

NEGISHI, K.; AYAKI, M.; UCHINO, M.; TAKEI, K.; & TSUBOTA, K. Strip meniscometry correlates with ocular surface tests and symptoms. **Translational Vision Science & Technology**, v. 9, n. 12, p. 31-31, 2020.

NICHOLS, K. K.; NICHOLS, J. J.; & LYNN MITCHELL, G. The relation between tear film tests in patients with dry eye disease. **Ophthalmic and Physiological Optics**, v. 23, n. 6, p. 553-560, 2003.

NIV, Y.; BOLTIN, D. Secreted and membrane-bound mucins and idiopathic peptic ulcer disease. **Digestion**. v. 86, p. 258-263, 2012.

ORIÁ, A. P.; MONÇÃO SILVA, R. M.; PINNA, M. H.; OLIVEIRA, A. V. D.; FERREIRA, P. R. B.; MARTINS FILHO, E. F.; & OFRI, R. Ophthalmic diagnostic tests in captive red-footed tortoises (*Chelonoidis carbonaria*) in Salvador, northeast Brazil. **Veterinary Ophthalmology**, v. 18, p. 46-52, 2015.

ORIÁ, A. P.; RAPOSO, A. C. S.; ARAÚJO, N. L.; LIMA, F. B.; & MASMALI, A. M. Tear ferning test in healthy dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 21, n. 4, p. 391-398, 2018.

OZULKEN, K.; AKSOY AYDEMIR, G.; TEKIN, K.; & MUMCUOĞLU, T. Correlation of non-invasive tear break-up time with tear osmolarity and other invasive tear function tests. In: **Seminars in Ophthalmology**. Taylor & Francis, 2020. p. 78-85.

PENG, C. C.; CERRETANI, C.; BRAUN, R. J.; & RADKE, C. J. Evaporation-driven instability of the precorneal tear film. **Advances in colloid and interface science**, v. 206, p. 250-264, 2014.

PERUCCIO, C. Approccio diagnostico e terapeutico alle malattie dell'unità funzionale lacrimale e della superficie oculare nel cane e nel gatto. **Rivista Veterinaria**. Anno 32, n. 1, 2018.

PERUCCIO, C. et al. **Clinical Atlas – Ocular Surface Analyser, Veterinary Setting for the Diagnosis of dry eye with O.S.A.-VET**, SBM Sistemi, Itália, 114p. s.d. disponível em < https://www.sbmsistemi.com/v20/res/ATLASVET_eng.pdf > Acesso 03 de jun de 2022.

PICCIONE, G.; GIANNETTO, C.; FAZIO, F.; ASSENZA, A.; & CAOLA, G. Daily rhythm of tear production in normal dog maintained under different Light/Dark cycles. **Research In Veterinary Science**, v. 86, n.3, p.521-524, 2009.

RAJAEI, S. M.; ANSARI MOOD, M.; ASADI, F.; RAJABIAN, M. R.; & AGHAJANPOUR, L. Strip meniscometry in dogs, cats, and rabbits. **Veterinary Ophthalmology**, v. 21, n. 2, p. 210-213, 2018.

RIBEIRO, A. P.; BRITO, F. L. D. C.; MARTINS, B. D. C.; MAMEDE, F.; & LAUS, J. L. Qualitative and quantitative tear film abnormalities in dogs. **Ciência Rural**, v. 38, p. 568-575, 2008.

ROLANDO, M. Tear mucus ferning test in normal and keratoconjunctivitis sicca eyes. **Chibret International Journal of Ophthalmology**, v. 2, n. 4, p. 32-41, 1984.

SAITO, A.; IZUMISAWA, Y.; YAMASHITA, K.; & KOTANI, T. The effect of third eyelid gland removal on the ocular surface of dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 4, n. 1, p. 13-18, 2001.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, J. M.; DE-HITA-CANTALEJO, C.; MARTÍNEZ-LARA, C.; & SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, M. C. Lipid, aqueous and mucin tear film layer stability and permanence within 0.15% liposome crosslinked hyaluronic acid versus 0.15% non-crosslinked hyaluronic acid measured with a novel non-invasive ocular surface analyzer. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 13, p. 3719, 2022.

SARTORI, R.; PERUCCIO, C. A. Case of Sebaceous Adenitis and Concurrent Meibomian Gland Dysfunction in a Dog. **Veterinary Sciences**, v. 7, n. 2, p. 37, 2020.

SCHULZE, K.; GROßJOHANN, R.; PAUL, S.; BOSSALLER, L.; & TOST, F. Schirmer's test and strip meniscometry: Comparative consideration in the diagnostics of dry eye. **Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft**, 2020.

SEBBAG, L.; PARK, S. A.; KASS, P. H.; MAGGS, D. J.; ATTAR, M.; & MURPHY, C. J. Assessment of tear film osmolarity using the TearLab™ osmometer in normal dogs and dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Veterinary Ophthalmology**, v. 20, n. 4, p. 357-364, 2017.

SEBBAG, L.; SILVA, A. P. S.; SANTOS, Á. P.; RAPOSO, A. C. S.; & ORIÁ, A. P. An eye on the Shih Tzu dog: Ophthalmic examination findings and ocular surface diagnostics. **Veterinary Ophthalmology**, p. 1-13, 2022.

SEGEV, F.; GEFFEN, N.; GALOR, A.; COHEN, Y.; GEFEN, R.; BELKIN, A., ... & HARRIS, A. Dynamic assessment of the tear film muco-aqueous and lipid layers using a novel tear film imager (TFI). **British Journal of Ophthalmology**, v. 104, n. 1, p. 136-141, 2020.

SHINZAWA, M.; DOGRU, M.; MIYASAKA, K.; SHIMAZAKI, J.; & SEKIRYU, T. Application of OCT tear meniscus imaging and new strip meniscometry in the diagnosis of dry eye disease. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 56, n. 7, p. 293-293, 2015.

SMITH, S. P.; BARBON, A. R.; & FORBES, N. A. Evaluation of the phenol red thread tear test in Falconiformes. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 29, n. 1, p. 25-29, 2015.

THELIN, W. R.; JOHNSON, M. R.; HIRSH, A. J.; KUBLIN, C. L.; & ZOUKHRI, D. Effect of topically applied epithelial sodium channel inhibitors on tear production in normal mice and in mice with induced aqueous tear deficiency. **Journal Of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n. 4, p. 433-438, 2012.

TOFFLEMIRE, K. L.; WHITLEY, E. M., GOULD, S. A.; DEWELL, R. D.; ALLBAUGH, R. A., BEN-SHLOMO, G., ... & DAVID WHITLEY, R. Schirmer tear test I and rebound

tonometry findings in healthy calves. **Veterinary Ophthalmology**, v. 18, n. 2, p. 147-151, 2015.

TOMLINSON, A.; BLADES, K. J.; & PEARCE, E. I. What does the phenol red thread test actually measure?. **Optometry and vision science**, v. 78, n. 3, p. 142-146, 2001.

TOTUK, Ö. M. G.; KABADAYI, K.; ÖZKAPI, C.; & AYKAN, Ü. Efficacy of Intense Pulsed Light Treatment for Moderate to Severe Acute Blepharitis or Blepharoconjunctivitis: A Retrospective Case Series. **Turkish Journal of Ophthalmology**, v. 51, n. 2, p. 89, 2021.

TROST, K.; SKALICKY, M.; & NELL, B. Schirmer tear test, phenol red thread tear test, eye blink frequency and corneal sensitivity in the guinea pig. **Veterinary Ophthalmology**, v. 10, n. 3, p. 143-146, 2007.

VIGO, L.; PELLEGRINI, M.; BERNABEI, F.; CARONES, F.; SCORCIA, V.; & GIANNACCARE, G. Diagnostic performance of a novel noninvasive workup in the setting of dry eye disease. **Journal of Ophthalmology**, v. 2020, 2020.

VIÑAS, M.; MAGGIO, F.; D'ANNA, N.; RABOZZI, R.; & PERUCCIO, C. Meibomian gland dysfunction (MGD), as diagnosed by non-contact infrared Meibography, in dogs with ocular surface disorders (OSD): a retrospective study. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, p. 1-8, 2019.

VISSER, H. E.; TOFFLEMIRE, K. L.; LOVE-MYERS, K. R.; ALLBAUGH, R. A.; ELLINWOOD, N. M.; DEES, D. D.;... & WHITLEY, R. D. Schirmer tear test I in dogs: results comparing placement in the ventral vs. dorsal conjunctival fornix. **Veterinary Ophthalmology**, v. 20, n. 6, p. 522-525, 2017.

WILLCOX, M. D.; ARGÜESO, P.; GEORGIEV, G. A.; HOLOPAINEN, J. M.; LAURIE, G. W.; MILLAR, T. J.;... & JONES, L; **TFOS DEWS II tear film report. The ocular surface**, v. 15, n. 3, p. 366-403, 2017.

WILLIAMS, D. L. Immunopathogenesis of keratoconjunctivitis sicca in the dog. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 38, n. 2, p. 251-268, 2008.

WILLIAMS, D.; MIDDLETON, S.; FATTAHIAN, H.; & MORIDPOUR, R. Comparison of hyaluronic acid-containing topical eye drops with carbomer-based topical ocular gel as a tear replacement in canine keratoconjunctivitis sicca: A prospective study in twenty five dogs. In: **Veterinary Research Forum**. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, 2012. p. 229

WILLIAMS, D. L.; & MANN, B. K. Efficacy of a crosslinked hyaluronic acid-based hydrogel as a tear film supplement: a masked controlled study. **PLoS One**, v. 9, n. 6, p. e99766, 2014.

WILLIAMS, D.; & HEWITT, H. Tear ferning in normal dogs and dogs with keratoconjunctivitis sicca. **Open Veterinary Journal**, v. 7, n. 3, p. 268-272, 2017.

WINIARCZYK, M.; WINIARCZYK, D.; BANACH, T.; ADASZEK, L.; MADANY, J.; MACKIEWICZ, J.; & WINIARCZYK, S. Dog tear film proteome in-depth analysis. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0144242, 2015.

APÊNDICE 1 – FICHA DE COLETA DE DADOS

PROJETO MESTRADO JÉSSICA VOITENA COLETA DE DADOS

Paciente: _____	Idade: _____
Tutor: _____	
Raça: () Pug () ShihTzu () Lhasa Apso () Buldogue francês () Buldogue Inglês () Pequês () Boston terrier () Maltês () Boxer () Cavalier King Charles Spaniels () Outra: _____	

EXAME OFTÁLMICO

1. TRFL-NI (s)	OD	OS
2. Meniscometria (mm)	OD	OS
3. I-Tear (mm/5s)	OD	OS
4. Osmolaridade (mOsm/L)	OD	OS
5. TLS-1 (mm/min)	OD	OS
6. Avaliação clínica:		
Vasos () 0 () 1 () 2 () 3	Pigmento () 0 () 1 () 2 () 3	
Secreção () 0 () 1 () 2 () 3	Edema () 0 () 1 () 2 () 3	
Fibrose () 0 () 1 () 2 () 3	Hiperemia conjuntival () 0 () 1 () 2 () 3	
7. BUT (s) OD OS	8. Foto: () Sim () Não	

Observação:

Grupo () 1 () 2 () 3 () 4

Legenda:

NIBUT: Non-invasive break-up time (tempo de ruptura do filme lacrimal não invasivo)

TLS: Teste Lacrimal de Schirmer

BUT: Break up time (tempo de ruptura do filme lacrimal)

Avaliação clínica: 0 ausente / 1 discreto / 2 moderado / 3 severo

Temperatura da sala (°C) _____ Umidade (%) _____

SÃO PAULO, DATA _____ / _____ / _____

ANEXO 1 – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO CEUA/PALOTINA

Ministério da Educação
Universidade Federal do Paraná
Setor Palotina
Comissão de Ética no Uso de Animais



Certificado

Certificamos que o **Protocolo nº 06/2021** referente ao projeto de pesquisa **Estudo comparativo entre o OSAVET e os testes de tiras em cães braquicefálicos com e sem ceratoconjuntivite seca** sob responsabilidade da **Prof. Olicies da Cunha**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor Palotina da UFPR (CEUA/Palotina) em **14/04/2021**.

O Docente responsável pelo envio do formulário deve estar ciente de que deve:

- informar qualquer intercorrência, efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo;
- informar sobre a necessidade de modificações ou emendas ao protocolo que foi descrito e aprovado, identificando a parte do protocolo a ser modificada e apresentando justificativas claras

Palotina, 14 de abril de 2021

Certificate

*Certify that the **Protocol n. 06/2021** regarding the research project **Comparative study between OSAVET and strip tests in brachycephalic dogs with and without keratoconjunctivitis sicca** of **Olicies da Cunha** is according to the Ethical Principles of Animal Experimentation adopted by the National Council for Animal Experiments Control (CONCEA) and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animal Use of the UFPR – Setor Palotina (CEUA / Palotina) in **April 14, 2021**.*

Palotina, April 14, 2021.

Prof. Geraldo Camilo Alberton
Coordenador/Coordinator
CEUA/Palotina - UFPR