



Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com e sem piometra⁽¹⁾

(Assessment of C-reactive protein, fibrinogen and leukogram in bitches with and without pyometra)

"Artigo Científico/Scientific Article"

CCD Carvalho^{A(*)}, EW Rêgo^B, M Queque^A, PC Soares^B

^ALaboratório de Patologia Clínica do Hospital Geral do Exército. Rua do Hospício, 563. Boa Vista, 50050 005 Recife-PE/Brasil.

^BÁrea de Clínica do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171 900 Recife-PE/Brasil.

Resumo

Com o objetivo de avaliar o perfil sanguíneo do fibrinogênio, da proteína C reativa (PCR) e do leucograma, além de verificar as possíveis correlações entre estes indicadores clínicos em cadelas clinicamente saudáveis e com piometra, foram constituídos dois grupos, sendo um sem ($n = 15$) e outro com piometra ($n = 30$). O sangue foi coletado por venopunção e a PCR quantitativa foi determinada pelo método ultra-sensível turbidimétrico. Observou-se que o número total de leucócitos, metamielócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos, além do fibrinogênio e PCR, foram maiores no grupo de animais com piometra, enquanto que os valores de eosinófilos foram menores neste mesmo grupo. Alta correlação positiva foi observada entre o fibrinogênio e a PCR e este último com parâmetros do leucograma. Pode-se concluir que análises leucométrica, do fibrinogênio e da PCR podem ser recomendadas como exames coadjuvantes no diagnóstico do processo inflamatório de cadelas com piometra.

Palavras-chave: proteínas de fase aguda, inflamação, diagnóstico, bioquímica.

Abstract

To evaluate the profile of blood fibrinogen, serum C-reactive protein (CRP) and leukogram, besides checking the possible correlations among these laboratory indicators in bitches clinically healthy and with pyometra, two groups were formed, one without pyometra ($n = 15$) and other with pyometra ($n = 30$). The blood was collected by venous puncture and the quantitative CRP was determined by ultra-sensitive turbidimetric method. It was observed that the total number of leukocytes, metamyelocytes, band cells, segmented neutrophils, lymphocytes and monocytes, in addition to fibrinogen and CRP were higher for the group of animals with pyometra, while the values of eosinophils were lower for the same group. High positive correlation was observed between CRP and fibrinogen and the latter with parameters of leukogram. It can be concluded that leukocytes, fibrinogen and PCR analysis may be recommended as coadjutants examination in the diagnosis of the inflammatory process of bitches with pyometra.

Key-words: acute phase proteins, inflammation, diagnosis, biochemistry.

Introdução

A piometra canina é uma enfermidade da cadela adulta caracterizada pela inflamação do útero com acúmulo de exsudatos (SMITH, 2006; BARTOSKOVA et al., 2007), podendo

ser de evolução aguda ou crônica (JOHNSTON et al., 2001). Esta enfermidade ocorre devido a alterações hormonais e, geralmente, está associada a infecções bacterianas (GOBELLO et al., 2006). Esta

⁽¹⁾Trabalho extraído da Dissertação de Mestrado do primeiro autor apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

^(*)Autor para correspondência/Corresponding author (cleytodontas@bol.com.br).

^(S)Recebido em 27/07/07 e aceito em 18/01/08.

patologia ocorre mais comumente em cadelas adultas, e o sintoma característico da piometra de cérvix aberta é uma descarga vulvar inodora de aspecto mucoso a purulento e coloração variável (JOHNSTON et al., 2001). Na forma fechada, não há presença de corrimento vaginal havendo, portanto, acúmulo de material no útero, caracterizado por um abdômen abaulado (WANKE e GOBELLO, 2006).

O diagnóstico é sugerido pela história clínica e pelos achados físicos. O aumento de volume pode ser papável, mais se preconiza sua comprovação por radiografia ou ultra-sonografia (FOSSUN, 2001). Os efeitos sistêmicos da piometra podem ser refletidos em exames laboratoriais, onde a contagem de células brancas em cadelas pode ser caracterizado por neutrofilia absoluta (usualmente acima de 25.000 células/mm³) com graus variáveis de imaturidade celular, secundária à infecção e septicemia. Se a infecção for severa ou crônica pode haver um desvio regenerativo para a esquerda, com presença de neutrófilos tóxicos (ETTINGER, 1997).

Diante das infecções microbianas, lesões teciduais, reações imunológicas e processos inflamatórios, com o objetivo de eliminar o agente infeccioso e/ou auxiliar no reparo tecidual, o organismo animal desenvolve um conjunto de alterações denominado de “resposta de fase aguda” (DINARELLO, 1984). Esta resposta de fase aguda induz às respostas localizadas e sistêmicas (BENJAMIN, 1978), que envolvem mudanças nas funções metabólicas, endócrinas, neurológicas, imunológicas e alterações nos níveis de algumas proteínas plasmáticas (DABROWSKI et al., 2007). Estas proteínas são produzidas no fígado e têm sua síntese diminuída ou aumentada durante a resposta inflamatória (ECKERSALL et al., 1989).

Vários trabalhos científicos indicam como principais proteínas de fase aguda, a proteína amilóide sérica (PAS), a proteína C reativa (PCR), o fibrinogênio, a proteína ligante de manose (PLM), a haptoglobina

(Hp), a ceruloplasmina (Cp), a α -1-antitripsina e a α -1-glicoproteína sérica. Dessas proteínas, as mais investigadas na medicina veterinária são as PCR em cães, a α -1-glicoproteína e a Hp em felinos, a Hp em ruminantes, além da PCR e Hp em suínos (YAMAMOTO et al., 1992).

De acordo com Eckersall (1989), a determinação da concentração plasmática de algumas dessas proteínas permite fornecer informações sobre a ocorrência de danos teciduais e para o monitoramento da recuperação da inflamação. Em caninos, algumas de suas propriedades têm sido caracterizadas somente recentemente (CASPI et al., 1984). Métodos para quantificação da PCR em cães (ECKERSALL et al., 1991) têm sido introduzidos. O fibrinogênio plasmático é outro bom indicador de resposta a uma infecção aguda, cujo aumento é freqüentemente observado em processos inflamatórios e infecciosos de cães (KANEKO et al., 1997), pois uma de suas funções é limitar a invasão do agente infeccioso.

Desta forma, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os níveis sanguíneos de PCR, fibrinogênio e o leucograma em cadelas com e sem piometra, além de avaliar a aplicação do teste turbidimétrico quantitativo da PCR como método indicador de reação inflamatória em cadelas com piometra.

Material e Métodos

Foram utilizadas 45 cadelas (*Canis familiaris*), com faixa etária de dois a 12 anos, de diferentes raças e pesos. Todos os animais foram oriundos de uma unidade clínica particular. Foram formados dois grupos de animais, sendo um controle (n = 15) e outro com animais apresentando diagnóstico de piometra (n = 30). Os animais foram submetidos a exame clínico e laboratorial e os que se encontravam com suspeita de piometra foram encaminhados ao bloco cirúrgico para serem submetidos à ovariossalpingohisterectomia (OSH) para confirmação da enfermidade. Para critério de inclusão do

grupo com piometra, foram considerados os animais com diagnóstico confirmativo dessa alteração pelo conjunto de dados, principalmente pela OSH. Em relação ao grupo controle, foram considerados animais em condição de higiene após as avaliações clínica e laboratorial.

Amostras de sangue foram obtidas por meio da venopunção da jugular externa, utilizando-se sistema de coleta a vácuo. Para a determinação do leucograma e fibrinogênio, o sangue foi coletado em tubos contendo solução a 10% de Ácido Etileno Diamino Tetra Acético (EDTA), enquanto que para a quantificação da PCR foram utilizados tubos sem anticoagulante para a obtenção do soro. As amostras sem anticoagulante foram mantidas a temperatura ambiente e aproximadamente dez minutos da coleta foram centrifugadas, por seis minutos a 3.000 rpm, para obtenção do soro. Posteriormente, este foi aliquoteado e armazenado à -20°C , em tubos plásticos, até a realização das análises da PCR.

A contagem do número total de leucócitos foi efetivada em hemocítometro utilizando a câmara de Neubauer, segundo técnica descrita por Jain (1993) e a contagem diferencial de leucócitos (100 células) foi realizada em amostras de sangue distendidas sobre lâminas de microscopia e coradas pelo método de May-Grunwald Giemsa (MATOS e MATOS, 1995) e leitura em microscópio óptico em objetiva de imersão.

A determinação do fibrinogênio foi realizada pela técnica precipitação a 56°C , segundo Jain (1993), enquanto que a PCR foi determinada pelo método ultra-sensível turbidimétrico, utilizando-se kit comercial (Biotécnica Indústria e Comércio, Varginha-MG/Brasil), (CAT BT – 20.017.00). As amostras foram analisadas em analisador bioquímico TARGA 3000 (Random Access Chemistry Analyser Biotecnia Instruments).

Os dados foram tabulados e avaliados, inicialmente, quanto à sua distribuição normal, utilizando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov. Variáveis sem distribuição normal foram transformadas pela raiz quadrada de $X + 1$.

Por conseguinte, os dados normais ou transformados foram submetidos à análise de variância (Teste F) e, nos casos de significância no teste F, as médias foram comparadas pela diferença mínima significativa (d.m.s.) do teste de Duncan. Estatística de associação entre pares de variáveis foi realizada com a determinação do coeficiente de Pearson. Os dados foram analisados por meio do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 2000). Para todas as análises estatísticas realizadas foi adotado o nível de significância de 5%.

Resultados

Os resultados do leucograma, PCR e fibrinogênio plasmático encontram-se na Tabela 1 e Figura 1. Observa-se que em relação ao leucograma, os valores observados do número total de leucócitos, metamielócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos foram maiores para o grupo de animais com piometra, enquanto que os valores de eosinófilos foram menores para este mesmo grupo ($P < 0,0398$). Os valores de mielócitos e basófilos apresentaram-se análogos.

Verifica-se, na Tabela 1 e Figura 1, que os valores médios do fibrinogênio plasmático e PCR foram maiores para o grupo de animais com piometra em relação aos que não apresentavam tal condição clínica ($P < 0,0001$).

Na Tabela 2 estão exibidos os coeficientes de correlação e seus respectivos níveis de significância entre as variáveis estudadas. É importante destacar as altas correlações positivas da PCR com os leucócitos, neutrófilos segmentados, bastonetes e fibrinogênio; leucócitos com bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos; bastonetes com neutrófilos segmentados e monócitos; neutrófilos segmentados com linfócitos e monócitos. Citam-se, ainda, média correlação positiva entre o fibrinogênio e os leucócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos; bastonetes com linfócitos e este últimos com os monócitos.

Tabela 1 - Valores médios, desvios-padrão, medianas, percentis (P₂₅ e P₇₅) e nível de probabilidade do leucograma e indicadores de reação inflamatória (fibrinogênio plasmático e proteína C reativa sérica) de cadelas com e sem piometra.

Parâmetros	Condição Clínica		Pr > F
	Sem Piometra	Com Piometra	
Leucócitos (/μL)	11720,0 ±2391,71	24415,0 ±9141,51	<0,0001
Mielócitos* ¹ (/μL)	0,0 (0;0)	0,0 (0;0)	0
Meta-mielócitos* ¹ (/μL)	0,0 (0;0)	0,0 (0;832)	0,0090
Bastonetes* ¹ (/μL)	0,0 (0;0)	1398,00 (0;5520)	<0,0001
Neutrófilos Segmentados (/μL)	8513,0 ±1974,66	17546,0 ±6329,83	<0,0001
Eosinófilos* ¹ (/μL)	270,0 (0;480)	0,0 (0;1380)	0,0398
Basófilos* ¹ (/μL)	0,0 (0;0)	0,0 (0;0)	0
Linfócitos** ¹ (/μL)	2672,4 ±490,88	4025,3 ±1386,26	0,0040
Monócitos** ¹ (/μL)	316,0 (82;720)	589,0 (74;2300)	0,0034
Fibrinogênio (mg/dL)	326,67 ±96,12	630,00 ±203,67	<0,0001
PCR (mg/L)***	0,11 ±0,08	0,91 ±0,21	<0,0001

*Estatística de dados transformados em Raiz (x + 1);

**Estatística de dados transformados em Log x;

***Proteína C Reativa;

¹Medianas e Percentis (P₂₅ e P₇₅).

Discussão

Com base na condição clínica de piometra aqui estudada, um aspecto importante a ser considerado é a resposta inflamatória, a qual está presente em infecções graves e processos inflamatórios que produzem ou liberam mediadores da inflamação, podendo causar alterações sistêmicas (HARDIE ELLIOT, 1990; HAGMAN et al., 2006).

Nesse estudo ficou evidente que cadelas acometidas de piometra tiveram alterações marcantes dos indicadores de avaliação hematológica e de reação inflamatória. Marcadores inflamatórios, como a PCR e fibrinogênio e o comportamento de células do sangue periférico envolvidas na inflamação, como visto no leucograma, vêm sendo estudados (SANTOS et al., 2003), embora muito pouco ainda esteja sendo utilizado na rotina clínica.

A leucocitose teve um perfil característico e compatível com as observações de Santos et al. (2003), os quais retratam que os leucócitos podem ser ativados por meio de lesão tecidual, pela presença de LDL-colesterol oxidada, pela presença de agente infeccioso na parede vascular ou em qualquer sítio orgânico. As cadelas com piometra tiveram um considerável aumento deste indicador, entendendo-se que esta patologia define um quadro clínico grave e digno de atenção quanto ao restabelecimento da condição clínica dos animais.

As alterações dos valores absolutos dos neutrófilos e bastonetes, como ocorrido no grupo com piometra, pode ser explicada como resposta ao processo infeccioso provocado pela enfermidade. Este achado encontra-se de acordo com Ettinger (1997), o qual relata que, geralmente, ocorre uma neutrofilia absoluta com graus variáveis de imaturidade celular, secundária à infecção ou septicemia. A neutrofilia inflamatória, frequentemente causadora da leucocitose, é a principal característica laboratorial das infecções agudas, especialmente causadas por germes piogênicos, comumente isolados na piometra (NAVARRO e PACHALY, 1994).

Jain (1993) e Schultze e Arnold (2000) afirmaram que o aumento do número de células imaturas na circulação sanguínea, como o aumento dos bastonetes que foram registrados neste estudo, ocorre na fase aguda ou crônica dos processos inflamatórios devido a uma liberação mais acelerada dessas células pela medula e diminuição da diapedese, dados que são análogos ao perfil encontrado nos animais aqui estudados.

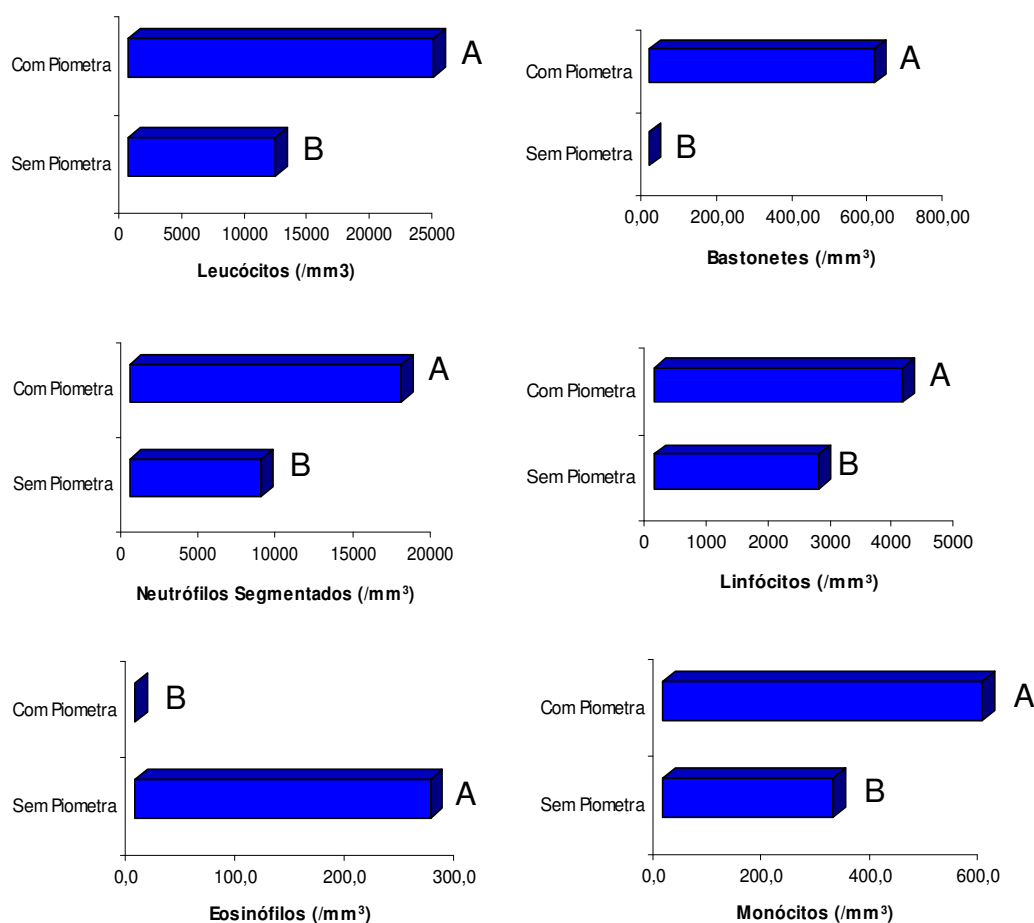


Figura 1 - Representação gráfica do perfil das variáveis do leucograma e indicadores de reação inflamatória (fibrinogênio plasmático e proteína C reativa sérica) de cadelas com e sem piometra.

Tabela 2 - Matriz de correlação linear do leucograma, fibrinogênio e proteína C reativa de cães com e sem piometra.

	Leucócitos	Bastonetes	Neutrófilos Segmentados	Linfócitos	Monócitos	Fibrinogênio.	PCR*
Leucócitos (μL)	1	0,83** 0,0001***	0,99 0,0001	0,81 0,0001	0,80 0,0001	0,53 0,0002	0,65 0,0001
Bastonetes (μL)		1	0,78 0,0001	0,50 0,0005	0,78 0,0001	0,53 0,0002	0,60 0,0001
Neutrófilos Segmentados (μL)			1	0,79 0,0001	0,76 0,0001	0,54 0,0002	0,67 0,0001
Linfócitos (μL)				1	0,54 0,0001	0,36 0,0161	0,50 0,0005
Monócitos (μL)					1	0,40 0,0068	0,43 0,0068
Fibrinogênio (mg/dL)						1	0,70 0,0001
PCR (mg/L) ¹							1

*PCR = proteína C reativa; **Valor do "r" da correlação de Pearson; ***Nível de significância da correlação.

Considerando o aumento dos linfócitos nos animais com piometra, entende-se que o seu aparecimento ocorreu secundariamente ao surgimento dos neutrófilos circulantes e em seqüência migraram para o foco inflamatório. Sua ação é diferenciada em relação aos outros leucócitos, pois estas células são mobilizadas de acordo com o antígeno específico. Uma outra particularidade é que estas células podem entrar e sair da corrente sanguínea devido a sua vida mais longa, além de poderem sofrer alterações blásticas e voltarem a se dividirem, aumentando, assim, a sua população (NAVARRO e PACHALY, 1994).

Com relação à eosinopenia observada, esta ocorreu provavelmente pela diminuição do influxo de células da medula óssea e diminuição do efeito quimiotático da histamina para os eosinófilos (JAIN, 1993; SCHULTZE e ARNOLD, 2000). Já o aumento dos monócitos encontrados no grupo com piometra pode ser explicado, segundo Matos e Matos (1995), pelo semelhante comportamento dos neutrófilos, uma vez que estas células constituem a primeira linha de defesa do organismo e que seu papel principal é desencadeado pela incapacidade dos neutrófilos em fagocitar grande quantidade de microorganismos ou partículas excessivamente grandes.

Na análise comparativa do fibrinogênio plasmático nos grupos estudados foi possível observar uma hiperfibrinogemia, tendo aumentado quase duas vezes quando comparado com os animais do grupo controle. A justificativa deste aumento está associada ao processo inflamatório característico da enfermidade. Segundo Jain (1993), os valores de normalidade para o fibrinogênio nesta espécie estão compreendidos entre 100 a 400 mg/dL. Este aumento está próximo do encontrado por Benjamin (1978), o qual avaliou animais com piometra e obteve valores em torno de 600 mg/dL.

A justificativa do aumento desta proteína também pode ser associada ao aumento da síntese do fibrinogênio no fígado após sofrer a ação estimuladora das

interleucinas (IL-1 e IL-6) e ao fator de necrose tecidual liberado pelo processo inflamatório no útero. Este estimulou os hepatócitos produzirem RNAm, induzindo a produção desta proteína de fase aguda, como já demonstrado por Andrews et al. (1994), os quais relataram não somente a produção do fibrinogênio, mas também da PCR e amilóide sérica A.

A PCR reflete ativação do sistema imunológico e pode ser usado para avaliar a saúde de animais (DABROWSKI et al., 2007), como confirmado neste estudo, avaliando-se a condição clínica de piometra. Evidenciou-se um aumento exponencial deste indicador bioquímico, como pode ser visto na Tabela 1. A concentração sérica desta proteína foi quase nove vezes maior quando comparada aos animais controle.

Eckersall et al. (1991) relatam em seus estudos que valores séricos da PCR em cães, baixos ou indetectáveis, são indicativos de ausência de processos patológicos. Esta observação é corroborada com a verificada nos animais do grupo controle.

Esta proteína produzida no organismo das cadelas foi resultado de alterações imunológicas, bem como neuroendócrinas e metabólicas (DABROWSKI et al., 2007), como consequência da infecção uterina mediada pela presença de agentes infecciosos. Vale salientar, que esta resposta é uma condição de imunidade não específica (DABROWSKI et al., 2007). O resultado aqui obtido evidencia também o potencial uso deste indicador na avaliação de cadelas com piometra.

Poucos trabalhos relatam a associação da PCR com a piometra em cadelas (DABROWSKI et al., 2007) e são inexistentes trabalhos relacionando esta enfermidade com o fibrinogênio. Nenhum trabalho fora encontrado evidenciando a relação existente entre estes indicadores com o leucograma, uma vez que estes são rotineiramente utilizados na avaliação de animais com tal condição clínica e outras infecções e inflamações.

Com base nos resultados, a associação encontrada na matriz de correlação permite

grande possibilidade de utilizar estes diferentes indicadores de reação inflamatória como parâmetro complementar na avaliação clínica. Assim sendo, a medida do fibrinogênio, bem como da PCR, como marcadores de inflamação, deveria ser encorajada na rotina clínica de cadelas com piometra.

A decisão de usar a análise do fibrinogênio e PCR como teste de rotina deve ser baseada em custo e eficácia, considerando também que estudos podem ser conduzidos no sentido de avaliar estes indicadores nas diferentes fases de evolução clínica.

Como os níveis plasmáticos de fibrinogênio e PCR aumentam em condições associadas ao processo de inflamação, todos os animais do grupo com piometra manifestaram um aumento significativo destes indicadores. Seguramente, não foi possível averiguar o momento característico da evolução clínica dos pacientes, porém, considerando-se que esta patologia geralmente é diagnosticada em evolução bem avançada do processo, com sintomas bem característicos, verifica-se que os maiores valores de desvio-padrão foram encontrados para o indicador fibrinogênio quando comparado com o grupo de animais controle.

É preciso considerar que a interpretação dos resultados laboratoriais também requer cuidadosa correlação com a história clínica e exames físicos do paciente, uma vez que processos inflamatórios ou infecciosos elevam a concentração basal de certos indicadores bioquímicos importantes na avaliação clínica, bem como que mais de uma determinação pode ser necessária para uma correta avaliação do risco relativo de um paciente.

Conclusão

Análises do leucograma, fibrinogênio e PCR podem ser recomendadas como exames coadjuvantes para o diagnóstico de cadelas com piometra. Julgando-se pela facilidade e praticidade da realização destes diferentes testes, recomenda-se tanto o fibrinogênio

quanto a PCR para o diagnóstico desta condição clínica.

Referências

ANDREWS, D.A. et al. Plasma fibrinogen in recognizing equine inflammatory disease. **Continuing education for the practicing veterinarian**, v.16, n.10, p.1349-1357, 1994.

BARTOSKOVA, A. et al. Hysterectomy leads to fast improvement of haematological and immunological parameters in bitches with piometra. **Journal of Small Animal Practice**, v.48, p.564-568, 2007.

BENJAMIN, M. M. **Manual de Patologia Clínica em Veterinária**. México: Limusa, 1978. 421p.

CASPI, D. et al. Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog. **Immunology**, v.53, p.307-313, 1984.

DABROWSKI, R. et al. Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with piometra. **Theriogenology**, v.67, p.321-327, 2007.

DINARELLO, C.A. Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute-phase response. **The New England Journal of Medicine**, v.311, n.22, p.1413-1418, 1984.

ECKERSALL, P.D. et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for canine C-reactive protein. **Veterinary Record**, v.124, p.490-491, 1989.

ECKERSALL, P.D. et al. An immunoturbidimetric assay for canine C-reactive protein. **Veterinary Research Communication**, v.15, p.17-24, 1991.

ETTINGER, J.S. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**, São Paulo: Manole, 1997. 840p.

FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**, São Paulo: Roca, 2001. 1355p.

GOBELLO, C. et al. A study of two protocols combining aglepristone and cloprostenol to treat open cervix piometra in the bitch. **Theriogenology**, v.60, n.5, p.901-908, 2006.

HAGMAN, R. et al. Pyometra in bitches induces elevated plasma endotoxin and prostaglandin F₂ metabolite levels. **Acta Veterinaria Scandinave**, v.47, n.1, p.55-68, 2006.

- HARDIE, E.M.; ELLIOT, K. K. Endotoxic shock. Part I. Review of causes. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v.4, n.5, p.256-266, 1990.
- JAIN, N.C. **Essentials of veterinary haematology**. Pennsylvania: Lea & Febiger, 1993. 989p.
- JOHNSTON, J.R. et al. Phylogenetic and pathotypic similarities between *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections in dogs and extraintestinal infections in humans. **Journal of Infection Disease**, v.15, n.183, p.897-906, 2001.
- KANEKO, J.J. et al. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5 ed. Philadelphia: Academic Press, 1997. 932p.
- MATOS, M.S.; MATOS, P.F. **Laboratório Clínico Veterinário Médico Veterinário**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1995. p.69-218.
- NAVARRO, C.E.K.; PACHALY, J.R. **Manual de hematologia veterinária**. São Paulo: Varela, 1994. p. 35-50.
- SANTOS, W.B. et al. Proteína C-Reativa e Doença Cardiovascular. As Bases da Evidência Científica. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.80, n.4, p.452-456, 2003.
- SAS - Statistical analysis system institut. **User's Guide**: Statistics Cary, 2000.
- SCHULTZE, D.R.; ARNOLD, P.I. Properties of four acute phase proteins: C – reactive protein, serum amyloid A protein, alfa1 – acid glycoprotein, and fibrinogen. **Arthritis Rheum**, v.20, p.129-147, 2000.
- SMITH, F.O. Canine piometra. **Theriogenology**, v.66, p.610-612, 2006.
- WANKE, M.M.; GOBELLO, C. **Reproduction en Caninos y Felinos domesticos**. Buenos Aires: Intermedica editorial, 2006. p.309-315.
- YAMAMOTO, S. et al. Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.30, p.329–339, 1992.