

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**APLICAÇÃO E CONTRIBUIÇÃO DA
CROMOENDOSCOPIA NO TRATO DIGESTÓRIO SUPERIOR
DE CÃES, UTILIZANDO LUGOL, ÍNDIGO CARMIM E AZUL
DE METILENO**

Emerson Legatti

Botucatu – SP

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**APLICAÇÃO E CONTRIBUIÇÃO DA
CROMOENDOSCOPIA NO TRATO DIGESTÓRIO SUPERIOR
DE CÃES, UTILIZANDO LUGOL, ÍNDIGO CARMIM E AZUL
DE METILENO**

Emerson Legatti

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para
obtenção do título de Mestre

Orientador: Prof. Titular Luiz
Carlos Vulcano

Co-orientador: Prof. Adj. Luiz
Eduardo Naresse

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Legatti, Emerson.

Aplicação e contribuição da Cromoendoscopia no trato digestório superior de cães, utilizando Lugol, Índigo Carmim e Azul de Metileno / Emerson Legatti. - Botucatu, 2013

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Luiz Carlos Vulcano

Coorientador: Luiz Eduardo Naresse

Capes: 50501038

1. Cão - Doenças - Diagnóstico. 2. Endoscopia veterinária. 3. Corantes no diagnóstico médico. 4. Sistema gastrointestinal.

Palavras-chave: Azul de Metileno, Índigo Carmim; Cães; Cromoendoscopia; Lugol; Trato digestivo.

Nome do autor: Emerson Legatti

Título: APLICAÇÃO E CONTRIBUIÇÃO DA CROMOENDOSCOPIA
NO TRATO DIGESTÓRIO SUPERIOR DE CÃES, UTILIZANDO
LUGOL, ÍNDIGO CARMIM E AZUL DE METILENO

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Titular Luiz Carlos Vulcano
Presidente e Orientador
Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária
UNESP – FMVZ – Botucatu

Prof. Ass. Dr. Marcos Jun Watanabe
Membro
Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária
UNESP – FMVZ – Botucatu

Prof.^a Ass. Dr.^a Érika Veruska Paiva Ortolan
Membro
Departamento de Cirurgia e Ortopedia
UNESP – FMB – Botucatu

Data da Defesa: 01 de agosto de 2013.

DEDICATÓRIA

A concretização deste projeto não está restrita à realização do mesmo, ela é a consequência de valores pessoais primordiais adquiridos durante toda minha vida.

Honestidade, lealdade, idoneidade, integridade de caráter, nunca faltar com a verdade, garra e brio na cara (nunca me esqueço deste item) são alguns dos valores cravados em mim pelo meu pai, Genesio Legatti, na verdade meu “pãe” (pai e mãe) por alguns anos. Sei que fez e faz o melhor que pode, e espero nunca desapontá-lo.

Valores delicados como calma, tolerância, proteção, justiça, introspecção e amor incondicional são outras marcas deixadas por minha 2ª mãe, Odete Torres Legatti que auxiliou e auxilia na minha criação.

Sei que parece estranho, mas mesmo não possuindo lembranças suas, devo ser justo e lhe agradecer imensamente por permitir minha entrada neste mundo, Maria Helena Botelho Legatti, minha mãe.

Por fim, e óbvio não menos importante, o destino me presenteou você Sabrina Moreira, esposa, namorada, amiga, parceira de 10 anos já. Aprendi com você, muitas coisas sobre os sentimentos e o espírito humano, aprendo todo dia alguma coisa sobre as pessoas, a vida, a profissão.

Meu amor por vocês não tem como ser descrito em poucas palavras e no momento não tenho tempo e nem cabeça para outra dissertação sobre isso agora, esta já deu muito trabalho (risos).

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, pela oportunidade ímpar de realização deste trabalho em suas dependências e por parte de minha formação acadêmica.

Ao Prof. Titular Luiz Carlos Vulcano, orientador, pelo apoio, amizade, broncas, compreensão e auxílio na elaboração e confecção deste trabalho. Meu profundo respeito e imensa gratidão.

Ao Prof. Adj. Luiz Eduardo Naresse, co-orientador, pela disposição e empenho nos esclarecimentos de dúvidas teóricas e técnicas, sugestões e críticas neste trabalho.

À Prof.^a Titular Sheila Canavese Rahal que sempre acreditou na minha capacidade técnica e me disponibilizou o equipamento endoscópico utilizado neste trabalho. Sem seu voto de confiança, provavelmente nada disso teria acontecido.

À Enfermeira Gisele Orsi, fundadora do serviço de Endoscopia do Hospital das Clínicas de Botucatu, que me acolheu e ensinou tudo que sei sobre o funcionamento, aplicações, manejo e conservação adequados dos equipamentos de endoscopia.

Ao Prof. Ass. Dr. Rogério Saad Hossne que prontamente abriu as portas e me direcionou no serviço de Endoscopia do Hospital das Clínicas de Botucatu onde estagiei.

A todos os funcionários que trabalhavam no Serviço de Endoscopia do HC Botucatu no ano de 2010 (meu estágio). Vocês me ensinaram não somente a parte técnica do trabalho desenvolvido no setor mas também o cuidado, carinho e respeito pelo paciente. Em especial, ao funcionário “Geraldinho” que até hoje me auxilia em muitas situações.

A todos os residentes e pós graduandos do Serviço de Anestesiologia, Cirurgia de Pequenos Animais e Radiologia, que me auxiliaram no procedimento anestésico e coleta de biópsias neste trabalho.

À Prof.^a Renée Laufer Amorim que como chefe do Serviço de Patologia da FMVZ Botucatu (2013), disponibilizou material humano e de consumo para o processamento de minhas amostras.

À técnica do Laboratório de Histopatologia Maria Valéria Morales Dalanezi que realizou o processamento do material e montagem das lâminas deste trabalho. Sua atenção, disponibilidade, dicas, paciência e acima de tudo empenho e alta capacidade técnica, propiciaram que este trabalho se concluísse.

Ao Prof. Júlio Lopes Sequeira, patologista veterinário, que sem hesitar por um instante sequer, avaliou rapidamente e com excelente qualidade, todas as lâminas deste projeto. Pelas conversas, dicas e ensinamentos que se estendiam além do objetivo do trabalho.

À Prof.^a Noeme Sousa Rocha pelas dicas de como conduzir este trabalho com poucas amostras, da melhor forma possível e também pela pronta disponibilidade em avaliar as lâminas caso fosse necessário.

Aos animais que participaram deste trabalho, meu respeito e gratidão. Espero que de alguma forma, eu também tenha contribuído com vocês para o diagnóstico de suas patologias.

Novamente, agradeço incondicionalmente à minha esposa, meus pais, irmãos e cães (Dime, Lois e Clark) que contribuíram para minha saúde mental nos momentos de alegria e diversão.

À Deus e a todas outras pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho, muito obrigado.

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Corantes utilizados em cromoendoscopia.	8
QUADRO 2 - Aplicações clínicas e valorização dos achados da cromoendoscopia.....	13

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Número de amostras colhidas de cada animal de acordo com o órgão avaliado.....	24
TABELA 2 - Correlação entre amostras colhidas de cada órgão e amostras avaliadas pela histopatologia.	25
TABELA 3 - Correlação entre o número de amostras avaliadas e o número de amostras positivas (+) ou negativas (-) no exame histopatológico para cada região.	25
TABELA 4 – Número de animais com presença (+) ou ausência (-) de lesões em cada região avaliada ao exame convencional, cromoendoscopia e histopatologia.....	26
TABELA 5 - Valores e interpretação do teste Kappa.	26
TABELA 6 - Diretrizes para avaliação do Kappa.....	26
TABELA 7 - Acurácia da E.C. e da CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) no esôfago.....	27
TABELA 8 - Acurácia da E.C. e CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) para a região de fundo gástrico.	28
TABELA 9 - Acurácia da E.C. e CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) para a região de corpo gástrico.	29
TABELA 10 - Acurácia da E.C. e CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) para a região de antro piloro.....	30

TABELA 11 - Acurácia da E.C. e da CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) no duodeno..... 31

TABELA 12 - Acurácia da E.C. e CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) para o estômago..... 32

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Cateter tipo spray.....	64
FIGURA 2 - Protetor de boca e sua aplicação.....	64
FIGURA 3 - Identificação, coloração e polipectomia antral.....	65
FIGURA 4 - Amostras de biópsia sobre papel filtro.	65
FIGURA 5 - Região de hipofaringe, esôfago cranial, médio e caudal mostrados antes e após a cromoendoscopia.....	66
FIGURA 6 - Imagens do fundo gástrico à retrovisão antes e após a cromoendoscopia.....	67
FIGURA 7 - Imagens do corpo gástrico parcialmente e totalmente insuflado.....	68
FIGURA 8 - Antro piloro antes e após cromoendoscopia e polipectomia com alça.....	69
FIGURA 9 - Duodeno e papila duodenal maior antes e após a cromoendoscopia.....	70

Sumário

RESUMO	ii
ABSTRACT	iv
1 – INTRODUÇÃO	2
2 – REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 – BREVE HISTÓRICO.....	5
2.2 – INDICAÇÕES NA MEDICINA VETERINÁRIA.....	5
2.3 – LIMITAÇÕES, CONTRA INDICAÇÕES E COMPLICAÇÕES	6
2.4 – CROMOENDOSCOPIA NA MEDICINA HUMANA.....	7
2.5 – POSSÍVEIS UTILIZAÇÕES NA MEDICINA VETERINÁRIA.....	10
2.5.1 – ESÔFAGO.....	10
2.5.2 – ESTÔMAGO	11
2.5.2.1 – IMPORTÂNCIA NA MEDICINA HUMANA.....	12
2.5.3 – DUODENO.....	13
2.5.3.1 – INDICAÇÕES NA MEDICINA HUMANA.....	14
2.6 – COLETA DE BIÓPSIA.....	15
2.7 – OBJETIVOS	16
3 – MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 – ANIMAIS.....	18
3.2 – TRIAGEM E CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	18
3.3 – JEJUM E PROCEDIMENTO ANESTÉSICO.....	18
3.4 - ENDOSCOPIA.....	19
3.5 – ESCOLHA E APLICAÇÃO DOS CORANTES.....	19
3.5.1 - LUGOL.....	20
3.5.2 – ÍNDIGO CARMIM.....	20
3.5.3 - DUODENO.....	21
3.6 - BIÓPSIAS.....	21
3.7 – ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
4 – RESULTADOS	24
4.1 – ESÔFAGO.....	26
4.2 – FUNDO	27
4.3 – CORPO.....	28
4.4 – ANTRO PILORO	29

4.5 – DUODENO	30
4.6 – ESTÔMAGO (FUNDO, CORPO E ANTRO PILORO).....	31
5 – DISCUSSÃO	34
5.1 – APLICAÇÃO DA TÉCNICA.....	34
5.2 – POSICIONAMENTO DO ANIMAL PARA O EXAME	34
5.3 – ALTERAÇÃO DA SEQUENCIA DO EXAME	34
5.4 – VANTAGENS E DESVANTAGENS	35
6 – CONCLUSÕES	39
7 – BIBLIOGRAFIA	41
8 – TRABALHO CIENTÍFICO	46
9 – ANEXOS	63

LEGATTI, E. **Aplicação e contribuição da Cromoendoscopia no trato digestório superior de cães, utilizando Lugol, Índigo Carmim e Azul de Metileno.** Botucatu, 2013. 75p. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu.

RESUMO

A Cromoendoscopia é definida como a aplicação tópica de corantes aquosos na mucosa do trato gastrointestinal. Estes corantes evidenciam alterações precoces ou discretas que passariam despercebidas ao exame convencional, permitindo assim a coleta de tecido alterado ou o acompanhamento de doenças pré existentes.

Na Medicina Veterinária, não foram encontrados trabalhos que tenham utilizado esta técnica, mas há muitas situações em que ela pode ser empregada como a pesquisa ou o acompanhamento de: esofagites (como esôfago de Barrett em humanos), lesões gástricas erosivas ou polipóides e lesões duodenais. Utilizando os corantes escolhidos, este trabalho teve como objetivos: demonstrar a aplicação da cromosendoscopia em cães e confirmar sua eficácia quanto à identificação e delimitação de lesões no trato digestório superior destes animais; descrever vantagens e desvantagens da cromosendoscopia no direcionamento e aquisição de amostras de biópsia do trato digestório superior de cães; e correlacionar os achados endoscópicos pré e pós aplicação da técnica com os resultados histopatológicos. O estudo utilizou 10 cães adultos provenientes do Canil Municipal de Botucatu, do Canil da UNESP FMVZ Botucatu e da rotina do Hospital Veterinário da UNESP FMVZ Botucatu. Todos os animais realizaram endoscopia digestiva alta (EDA) seguida de Cromosendoscopia (CRE) e coleta de biópsia da mucosa esofágica, gástrica e duodenal, quando acessível. As biópsias foram enviadas para exame histopatológico e identificação de presença ou ausência de lesão no material coletado. Os resultados demonstraram concordância

importante na cromoendoscopia (CRE) de esôfago com acurácia de 83,33%. Concordância moderada na endoscopia convencional (E.C.) de esôfago e na CRE de fundo, corpo e antro piloro com acurácia de 83,33%, 70%, 70% e 70% respectivamente. Concordância razoável na CRE de estômago com acurácia de 70%. Concordância ruim na E.C. de antro e na E.C. e CRE de duodeno com acurácia de 50%, 40% e 40% respectivamente. Não houve concordância na E.C. de fundo, corpo e estômago com acurácia de 40%, 40% e 43,33% respectivamente.

Palavras – chave: Azul de Metileno; Cães; Cromoendoscopia; Índigo Carmim; Lugol; Trato digestório.

LEGATTI, E. **Enforcement and contribution of Chromo endoscopy in the upper digestive tract of dogs using Lugol, Indigo Carmine and Methylene Blue** Botucatu, 2013. 75p. Master's Dissertation in Veterinary Medicine – School of Veterinary Medicine and Animal Science. São Paulo State University, Botucatu.

ABSTRACT

Chromoendoscopy is defined as the topical application of aqueous dye mucosa of the gastrointestinal tract. These dyes show early changes or mild they go unnoticed to the conventional examination, allowing the collection of tissue changes or monitoring pre-existing diseases. In Veterinary Medicine, there were no studies that have used this technique, but there are many situations in which it can be employed as research or monitoring esophagitis (such as humans Barrett's esophagus), erosive or polypoid gastric lesions and duodenal injuries. Using the colors chosen, this work was objectives: to demonstrate the technique of chromoendoscopy in dogs and evaluate its effectiveness as the identification and delineation of chronic or early lesions, often unapparent, in the upper digestive tract these animals; describe advantages and disadvantages of chromoendoscopy in targeting and acquisition of biopsy specimens of the upper digestive tract of dogs, and correlate the endoscopic findings before and after technique application with the histopathologic results. The study used 10 adult dogs from the Botucatu Municipal Kennel, UNESP kennel FMVZ Botucatu and routine FMVZ Veterinary Hospital of UNESP Botucatu. Every animals performed upper endoscopy (EGD) followed by Chromoendoscopy (CRE) and collecting biopsy of the esophageal mucosa, gastric and duodenal when available. Biopsies were sent for examination and identification of pathological presence or absence of lesions in the material collected. The results showed chromoendoscopy (CRE) important concordance of the esophagus with an accuracy of 83.33%. Moderate concordance in

conventional endoscopy (CE) of the esophagus and CRE fundus, body and pyloric antrum with an accuracy of 83.33%, 70%, 70% e 70% respectively. Reasonable concordance in CRE stomach with an accuracy of 70%. Poor concordance in the EC and in the duodenum EC and CRE accurately 50%, 40% and 40% respectively. There was no concordance on the E.C. background, body and stomach with an accuracy of 40%, 40% and 43.33% respectively.

Key - words: Methylene Blue; Dogs; chromoendoscopy; Indigo Carmine; Lugol; Digestive tract.

1 – Introdução

1 – INTRODUÇÃO

A endoscopia é um dos métodos para o diagnóstico de alterações no trato digestório superior de cães (GUILFORD, 2005) e sua utilização na Medicina Veterinária aumenta a cada dia.

A endoscopia digestiva alta (EDA) é freqüentemente utilizada, nos cães, para avaliar problemas clínicos como regurgitação, vômito crônico e corpos estranhos (GUILFORD, 2005). Ela também pode ser utilizada para pesquisa de diversas outras enfermidades que expressam sinais gastrointestinais inespecíficos, mesmo quando a causa primária localiza-se no trato gastrointestinal sendo o vômito o principal sinal. (FALLIN; LEIB; TREVOR, 1996; LECOINDRE *et al.*, 1997; ARAÚJO; FERREIRA, 2002; BENEVENTO; FERREIRA, 2002).

A esofagite de refluxo, forma comum encontrada após um animal ser submetido à anestesia geral, pode ser observada durante a endoscopia. Alterações microscópicas e inflamações epiteliais podem estar presentes mesmo antes destas alterações serem visíveis ao exame endoscópico convencional. Sendo assim, se suspeitamos de refluxo crônico, devemos realizar biópsias da mucosa adjacente ao esfíncter esofágico inferior para pesquisa de alterações epiteliais como, hiperplasia, displasia e metaplasia (WASHBAU; DAY, 2013).

Uma das principais causas de gastropatias em pequenos animais é o uso iatrogênico de antiinflamatórios não esteroidais (AINE's). Além desta podemos citar também a ingestão de corpos estranhos, agentes cáusticos entre outras (COSTA *et al.*, 2007), lesões facilmente identificadas através da endoscopia.

Costa *et al.* (2007), utilizando a E.D.A., descreveram lesões consideradas de baixo grau na mucosa gastroduodenal de cães, após administração de nimesulida, monofenilbutazona e meloxicam demonstrando que estes anti-inflamatórios são seguros para utilização em cães saudáveis.

Os exemplos de lesões, citadas anteriormente, identificadas através da E.D.A. no trato digestório superior de cães são passíveis de

identificação precoce ou melhor delimitação através da técnica de cromoendoscopia. Sendo assim, a CRE complementa o exame de EDA ou baixa (Colonoscopia).

A Cromoendoscopia consiste na aplicação tópica de corantes aquosos nas superfícies mucosas do trato gastrointestinal. Estes corantes colocam em evidência alterações precoces e/ou discretas que passariam despercebidas ao exame “convencional” (sem aplicação de corantes) fornecendo assim, informações diagnósticas adicionais a respeito da morfologia e fisiopatologia da superfície epitelial. Regiões interpretadas como positivas após aplicação dos corantes e não coletadas para análise podem esconder alguma doença ou nos levar a um diagnóstico impreciso (FAGUNDES, 2005).

Neste contexto, a endoscopia gastrointestinal se mostra uma excelente ferramenta diagnóstica que associada à CRE, pode se tornar ainda mais eficaz e eficiente.

Na Medicina Veterinária, não foram encontrados trabalhos que tenham utilizado esta técnica, mas existem muitas situações em que ela pode ser empregada como um método diagnóstico precoce e eficaz como na pesquisa ou acompanhamento de: esofagites (como esôfago de Barrett em humanos), lesões gástricas erosivas ou polipóides e lesões duodenais.

Este estudo teve como objetivo principal demonstrar a aplicação da cromoendoscopia e confirmar a eficácia da técnica em relação à identificação e delimitação de lesões, no trato digestório superior de cães. Objetivou também descrever as vantagens e desvantagens no direcionamento e aquisição de amostras de biópsia e correlacionar os achados endoscópicos pré e pós aplicação da técnica com os resultados histopatológicos.

Somente um proprietário muito cuidadoso em contato próximo com seu animal, perceberia uma mudança discreta de apetite ou um simples desconforto gastrointestinal o que já seria suficiente para o início de uma investigação.

2 – Revisão de Literatura

2 – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – BREVE HISTÓRICO

Na medicina humana, os primeiros relatos do uso da endoscopia derivam de Hipócrates (460-377 AC) que descreviam o uso de um espéculo retal. Espéculos vaginais, muito parecidos com os utilizados atualmente, foram encontrados em ruínas da Pompéia (79 DC), entretanto estes dispositivos utilizavam somente a luz natural e nenhum avanço foi relatado antes do século XIX (LHERMETTE; SOBEL, 2008).

Na medicina veterinária, no início de 1970, cirurgiões veterinários iniciaram o uso de técnicas minimamente invasivas. O primeiro relato foi uma broncoscopia em pequenos animais que ocorreu em 1970 por O'Brien, seguido de uma endoscopia do trato gastrointestinal utilizando endoscópio flexível, realizada por Johnson *et. al.* (CHAMNESS, 2005; LHERMETTE; SOBEL, 2008).

2.2 – INDICAÇÕES NA MEDICINA VETERINÁRIA

A endoscopia é descrita como um método diagnóstico especializado minimamente invasivo com possibilidades diagnósticas e terapêuticas (FAGUNDES, 2005). É uma excelente ferramenta para o diagnóstico de alterações no trato digestório superior de cães (GUILFORD, 2005) e sua utilização como exame complementar aumenta a cada dia.

A endoscopia digestiva alta (EDA) associada à cromoendoscopia (CRE) pode se tornar uma ferramenta diagnóstica eficaz na detecção de lesões precoces como na pesquisa ou acompanhamento de: esofagites (como esôfago de Barrett em humanos), lesões gástricas erosivas ou polipóides e lesões duodenais.

Através da endoscopia, alterações morfológicas e fisiológicas das células que revestem estes órgãos podem ser visibilizadas e coletadas para posterior estudo histopatológico (GUILFORD, 2005).

A EDA é freqüentemente utilizada para avaliar problemas clínicos como disfagia, regurgitação, vômito crônico, hematêmese, melena,

diarréia, corpos estranhos esofágicos ou gástricos, estenoses esofágicas e colocação de gastrostomia percutânea. O procedimento deve ser precedido por uma coleta cuidadosa da história clínica e dos exames físico e laboratorial adequados ao caso. Utilizada neste contexto, a EDA, tem um elevado rendimento diagnóstico, entretanto quando utilizada de forma automática, sem a devida atenção aos detalhes citados anteriormente, o resultado é um diagnóstico pobre ou falho (GUILFORD, 2005).

2.3 – LIMITAÇÕES, CONTRA INDICAÇÕES E COMPLICAÇÕES

A EDA tem maior utilidade no diagnóstico de alterações localizadas no lúmen ou na mucosa do esôfago, estômago e porção proximal do intestino delgado. As lesões localizadas nas camadas submucosa e muscular do trato gastrointestinal são mais difíceis de serem detectadas com o endoscópio. Esta limitação resultou no desenvolvimento da ecografia endoscópica (ultrassom endoscópico), uma técnica que permite a avaliação da espessura total de órgãos cavitários do trato gastrointestinal e de estruturas próximas a ele. A EDA e a biópsia endoscópica identificam alterações morfológicas, mas não doenças funcionais como alterações de motilidade ou hipersecreção (GUILFORD, 2005).

A EDA apresenta baixas morbidade e mortalidade, exceto em animais com alto risco anestésico onde há poucas contra indicações absolutas para a realização da endoscopia gastrointestinal. O exame não é indicado, por exemplo, quando se suspeita de perfuração intestinal, pois a insuflação de ar durante o procedimento acarreta o extravasamento de conteúdo luminal para a cavidade abdominal ou torácica (porção torácica do esôfago) e conseqüente contaminação dos tecidos adjacentes à lesão (GUILFORD, 2005).

As complicações são raras, mas pode ocorrer: perfuração gastrointestinal, laceração de grandes vasos ou de órgãos adjacentes ao trato gastrointestinal, diminuição do retorno venoso decorrente de hiperdistensão gástrica, bradicardia aguda, dilatação vólculo gástrica,

hemorragia de mucosa, translocação bacteriana e bacteremia. Dentre as intercorrências citadas acima a mais comum é a hiperdistensão gástrica decorrente de insuflação excessiva de ar no lúmen dos órgãos examinados (GUILFORD, 2005; TAMS, 2011).

2.4 – CROMOENDOSCOPIA NA MEDICINA HUMANA

A cromoendoscopia (CRE) é uma técnica que complementa o exame de endoscopia digestiva alta (EDA) ou baixa (Colonoscopia) e consiste na aplicação tópica de corantes aquosos nas superfícies mucosas dos órgãos do trato gastrointestinal. Estes corantes possibilitam o acompanhamento de doenças pré existentes, direcionam biópsias e evidenciam alterações precoces e/ou discretas que passariam despercebidas ao exame “convencional” (sem aplicação de corantes). Portanto, a CRE nos fornece informações diagnósticas adicionais a respeito da morfologia e fisiopatologia da superfície epitelial do órgão examinado (FAGUNDES, 2005).

Vários corantes podem ser utilizados e cada um tem uma ação específica sobre as células do trato gastrointestinal. A escolha do corante é realizada de acordo com a região que será avaliada associada a suspeita clínica do paciente. Em resumo, o corante escolhido é aquele que poderá nos dar mais informações sobre as células que serão examinadas (RATILAL *et al.*, 2002).

Os corantes são classificados como corantes de absorção, de contraste e de reação. Após observação minuciosa do órgão que está sendo examinado, a solução corante escolhida é aplicada diretamente sobre a mucosa sob observação endoscópica através de cateter tipo spray. Desta forma, as informações obtidas variam de acordo com o corante, o órgão examinado e com a lesão procurada (FAGUNDES, 2005). No Quadro 1 estão destacados, em vermelho, os corantes utilizados neste trabalho.

QUADRO 1 - Corantes utilizados em cromoendoscopia.

	Corantes	Estruturas coradas	Coloração positiva
Absorção	Lugol	Células com conteúdo glicogênico	Marrom-escuro
	Azul de metileno	Células intestinais ou metaplasia intestinal	Azul
	Azul de toluidina	Núcleo de células colunares, gástricas e intestinais	Azul
	Violeta de genciana	Metaplasia intestinal e neoplasia	Violeta
Contraste	Índigo-carmim	Fovéolas, criptas e pregas	Azul-violeta
Reação	Vermelho congo	Células gástricas produtoras de ácido	Vermelho para azul escuro ou preto
	Vermelho fenol	Células infectadas por H pylori	Amarelo para vermelho

Fonte: adaptado (FAGUNDES, 2005)

Neste contexto, a coloração da mucosa do trato gastrointestinal pode trazer esclarecimentos de três ordens: a) acentuar a visão do relevo da mucosa estudada, b) informar sobre a estrutura histológica ou histoquímica do epitélio de revestimento e de soluções de continuidade que o interromperam e c) fornecer indicações sobre as funções secretoras ou absorptivas do epitélio (FAGUNDES, 2005).

Para realização da EDA associada à CRE é necessário um equipamento fibro ou videogastrosκόpio, cateter tipo spray (Figura 1) e corantes específicos para o caso que será avaliado. A técnica é de execução simples, rápida, de baixo custo e segura em seres humanos capaz, por exemplo, de identificar alterações da mucosa esofágica, como metaplasia intestinal (esôfago de Barrett) as quais podem evoluir para uma neoplasia (FAGUNDES, 2005).

A técnica pode ser executada de forma direta e indireta. A forma indireta somente é utilizada no estômago e após preparo para eliminação do muco. O método direto é o mais utilizado, de execução simples e pode ser realizado em todo trato gastrointestinal acessado pela endoscopia (FAGUNDES, 2005).

A CRE confere uma maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico de displasia, metaplasia ou de carcinoma nos vários segmentos do tubo digestivo. Permite suspeitar da natureza maligna de

uma lesão, delinear corretamente as margens lesionais e mesmo estadiar uma neoplasia, avaliando a sua multicentricidade (RATILAL *et al.*, 2002).

A técnica é utilizada com maior frequência nas mucosas esofágica e colônica, sendo que no esôfago tem sido mais utilizada no rastreamento do carcinoma epidermóide em populações de risco e para identificação de metaplasia intestinal especializada (MIE) no esôfago distal (esôfago de Barrett) e seu acompanhamento (FAGUNDES, 2005).

Considera-se, que o uso da CRE no esôfago e cólon já possua evidência científica suficiente para classificar a técnica como útil no diagnóstico de displasia e carcinoma precoces. As mínimas alterações da arquitetura epitelial superficial observadas após a CRE permitem orientar as biópsias endoscópicas e aumentar a rentabilidade do exame histopatológico (RATILAL *et al.*, 2002).

Ratilal *et al.* (2002) relataram o uso da cromoendoscopia na diferenciação de pequenas alterações epiteliais, na escolha criteriosa de cada corante frente ao objetivo do exame e na real utilidade da técnica em diferentes órgãos onde ela é empregada.

Tincani *et al.* (2000) relataram o uso da cromoendoscopia com solução de lugol a 2% no rastreamento de segundo tumor primário e displasias em esôfago em 60 pacientes com tumores de cabeça e pescoço. Concluíram que a técnica apresenta alta sensibilidade, mas baixa especificidade nestes pacientes.

Satodate *et al.* (2004), relataram caso de um paciente com carcinoma superficial decorrente de esôfago de Barrett. O mesmo realizou tratamento de ressecção endoscópica circunferencial da mucosa acometida e foi acompanhado durante dois anos onde observaram reepitelização esofágica com epitélio escamoso. Neste trabalho, os pesquisadores poderiam ter delimitado exatamente o local e a extensão da ressecção com o uso, por exemplo, do Azul de Metileno.

Amano *et al.* (2005) compararam o uso do azul de metileno a 0,5 e 1% com o da violeta de genciana a 0,05 a 0,1% na coloração de segmento curto de esôfago de Barrett em 400 pacientes. Os resultados mostraram alta sensibilidade e especificidade no uso da violeta de

genciana e que nestes casos ela pode ser usada como vigilância da doença.

Utilizando a cromoendoscopia de magnificação, Brandão *et al* (2006), realizaram trabalho para determinação de padrões endoscópicos de pólipos gástricos e os relacionaram aos achados histológicos. Estes achados foram de gastrite crônica, metaplasia intestinal, pólipo gástrico inflamatório, pólipo gástrico hiperplásico e pólipo gástrico adenomatoso.

2.5 – POSSÍVEIS UTILIZAÇÕES NA MEDICINA VETERINÁRIA

Diversas enfermidades que acometem os cães expressam sinais gastrointestinais inespecíficos, o que dificultam seu diagnóstico e tratamento. Esta dificuldade permanece mesmo quando a causa primária localiza-se no trato gastrointestinal sendo o vômito o principal sinal. (FALLIN; LEIB; TREVOR, 1996; LECOINDRE *et al*, 1997; ARAÚJO; FERREIRA, 2002; BENEVENTO; FERREIRA, 2002).

2.5.1 – ESÔFAGO

Os animais com problemas esofágicos podem apresentar diversos sintomas e sinais clínicos, dos quais podemos destacar a regurgitação, disfagia, odinofagia e sialorréia. Também podemos encontrar megaesôfago, alterações de motilidade, divertículos esofágicos, anomalia do anel vascular, corpos estranhos, esofagites e estenoses, alterações hiatais e neoplasias esofágicas ou periesofágicas (WASHABAU; DAY, 2013).

A esofagoscopia é um dos métodos diagnósticos que podem ser empregados para detecção de algumas destas anormalidades das quais podemos citar: megaesôfago, divertículo esofágico, anomalia do anel vascular, corpos estranhos, estenoses esofágicas, fístula e perfuração, anormalidades hiatais, neoplasias esofágicas e periesofágicas e esofagites (WASHABAU; DAY, 2013).

A esofagite é a principal lesão encontrada e sua apresentação pode incluir aumento da friabilidade, hiperemia, facilidade de sangramento, superfície granulosa, aumento das pregas, úlceras, necrose

focal, pseudomembranas, áreas esbranquiçadas de fibrose associadas com indistensibilidade, estenoses e anormalidades do esfíncter gastroesofágico (WASHABAU; DAY, 2013).

A esofagite de refluxo, forma comum encontrada após um animal ser submetido à anestesia geral, pode ser observada durante a endoscopia. Alterações microscópicas e inflamações epiteliais podem estar presentes na esofagite por refluxo, mesmo antes destas alterações serem visíveis ao exame endoscópico convencional. Sendo assim, se suspeitamos de refluxo crônico, devemos realizar biópsias da mucosa adjacente ao esfíncter esofágico inferior para pesquisa de alterações epiteliais como, hiperplasia, displasia e metaplasia (WASHABAU; DAY, 2013).

Favarato, Souza e Costa (2010) relataram que a principal causa de esofagite em cães é a anestesia geral devido à ação de alguns fármacos diminuírem o tônus do esfíncter gastroesofágico.

A esofagite quando decorrente do refluxo gastro-esofágico durante a anestesia ou em animais portadores de doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) pode apresentar reepitelização por tecido metaplásico como mostram os trabalhos a seguir.

Gualtieri e Olivero (2006) relataram três casos de gatos com esofagite crônica que apresentaram epitélio metaplásico em esôfago distal semelhante ao esôfago de Barrett.

Han, Broussard e Baer (2003) relataram três casos de gatos com esofagite crônica provavelmente decorrente de DRGE. Os sinais encontrados no exame endoscópico e no histopatológico revelaram hiperplasia escamosa, displasia, erosões, úlceras e um infiltrado inflamatório de linfócitos, células plasmáticas e neutrófilos.

2.5.2 – ESTÔMAGO

Sabe-se que uma das principais causas de gastropatias em pequenos animais, é causada pelo uso iatrogênico de antiinflamatórios não esteroidais (AINE's). Além desta causa podemos citar também a ingestão de corpos estranhos ou agentes cáusticos, falência renal,

acloridria (primária ou secundária a drogas), doenças hepáticas e processos inflamatórios, infiltrativos ou neoplásicos (COSTA *et al.*, 2007). Algumas destas causas são passíveis de identificação através da CRE.

Swann e Holt (2002) realizaram estudo retrospectivo de 21 casos de cães com leiomioma e adenocarcinoma gástrico utilizando também a endoscopia como método diagnóstico. Quatorze dos dezoito cães com adenocarcinoma e os dois casos de leiomioma já apresentavam metástase.

Hernández, Gallón e Restrepo (2007) analisaram 410 biópsias gástricas de 98 cães com sintomas do trato gastrointestinal e 20 cães assintomáticos. Grande porcentagem dos cães tanto sintomáticos como assintomáticos apresentavam gastrite e presença de *Helicobacter* spp. Outros diagnósticos ocasionais foram de úlcera benigna, metaplasia intestinal e adenocarcinoma gástrico.

Foy e Bach (2010) relataram polipectomias utilizando eletrocautério em três cães e um gato. Um dos cães e o gato apresentavam pólipos gástricos e os outros dois cães pólipos coloretais. A polipectomia com eletrocautério demonstrou-se segura e viável para utilização em animais de companhia.

Neste trabalho, encontramos e realizamos a retirada de pólipos antrais e pilórico em três animais (Figura 2A a 2E).

2.5.2.1 – IMPORTÂNCIA NA MEDICINA HUMANA

Na medicina humana, a CRE gástrica tem papel importante na avaliação do câncer gástrico, especialmente no câncer gástrico precoce que se caracteriza por irregularidade mínima na mucosa ou alterações de coloração, muitas vezes difíceis de diferenciar de uma erosão péptica, trauma ou atrofia focal da mucosa (FAGUNDES, 2005).

A aplicação clínica da cromoendoscopia em esôfago e estômago está listada no Quadro 2.

QUADRO 2 - Aplicações clínicas e valorização dos achados da cromoendoscopia.

Órgão	Corantes	Característica da coloração	Interpretação
Esôfago	Lugol	Áreas descoradas ou não coradas	Neoplasia Esofagite Heterotopia Metaplasia Intestinal
	Azul de metileno	Coloração azul	Metaplasia Intestinal Especializada(MIE) Muco
		Coloração azul reduzida ou heterogeneidade em mucosa de Barrett corada de azul	Neoplasia em MIE Artefato de coloração
	Azul de toluidina	Coloração azul	Neoplasia intra-epitelial Neoplasia
Estômago	Índigo-carmim	Irregularidade da superfície da mucosa gástrica	Neoplasia Alterações inflamatórias ou reativas

Fonte: (FAGUNDES, 2005)

2.5.3 – DUODENO

O intestino delgado dos cães pode medir de 1 a 5 metros de comprimento dependendo do porte do animal. Este órgão relativamente longo é composto por três segmentos: duodeno, jejuno e íleo que possuem muitas características em comum (WASHABAU; DAY, 2013).

Costa *et al.* (2007) descreveram lesões consideradas de baixo grau na mucosa gastroduodenal de cães, após administração de nimesulida, monofenilbutazona e meloxicam demonstrando que estes anti-inflamatórios são seguros para utilização em cães saudáveis.

Hayes (2009) realizou estudo retrospectivo de 208 casos de corpo estranho gastrointestinal em cães e gatos. Todos os animais realizaram procedimento cirúrgico para retirada dos objetos. O estudo relatou o local da obstrução, o tipo do objeto (linear ou discreto), o grau de obstrução (parcial ou total), o tipo de tratamento (gastrotomia, enterotomia ou enterectomia) e por fim, o número de incisões realizadas no trato digestório para retirada do corpo estranho.

Na medicina veterinária, não foram encontrados trabalhos que tenham pesquisado especificamente as lesões deste segmento, mas muitas situações como a precisa delimitação de pólipos, a reepitelização

da mucosa após sua retirada e as lesões provocadas por corpos estranhos, são indicações de utilização da CRE para o acompanhamento da evolução destes casos.

2.5.3.1 – INDICAÇÕES NA MEDICINA HUMANA

Lessells e Martin (1982) relataram a presença de células gástricas ectópicas, tipo de corpo gástrico, na primeira porção duodenal de 13 pacientes. Estas células apresentavam-se como pequenos múltiplos pólipos na parede anterior do duodeno. Nenhum dos pacientes possuía histórico de úlceras duodenais, sendo assim, estes achados parecem ter pouca relevância clínica.

Roche *et al.*(2006) descreveram lesão polipóide duodenal incomum em um paciente de 58 anos submetido à endoscopia para simples acompanhamento de esôfago de Barrett. Este pólipos apresentava epitélio do tipo gástrico em sua superfície o que sugere uma mudança regenerativa em resposta a um ou mais episódios de lesões inflamatórias na mucosa duodenal.

Kanthan *et al* (2010) relataram em trabalho retrospectivo a presença de lesões polipóides ou massas duodenais incomuns em três pacientes diferentes que possuíam antecedentes de neoplasia. O primeiro paciente era portador de carcinoma renal, o segundo de feocromocitoma e o terceiro de melanoma maligno. Relataram também, uma revisão de 12 anos na área de patologia cirúrgica, onde encontraram 130 casos de lesões polipóides ou massas duodenais. Estes pacientes tinham entre 60 e 79 anos. Em 33% deles as lesões eram malignas sendo que destes 60,5% eram homens.

Niveloni *et al.*(1998) avaliaram a utilidade da videoduodenoscopia associada à cromoendoscopia com azul de metileno a 1% em relação ao exame convencional para detecção de doença celíaca. O estudo confirmou que a técnica é útil para detecção de atrofia de mucosa causada pela doença celíaca devido à melhor definição das pregas em mosaico. Para endoscopistas bem treinados a técnica não forneceu

informações adicionais, mas para profissionais iniciantes facilitou o reconhecimento das lesões.

Itoi *et al.* (2009) compararam o uso do índigo carmim e do sistema NBI (Narrow Band Imaging) na delimitação das margens de tumores localizados na papila duodenal maior em 14 pacientes. A delimitação da lesão utilizando NBI foi significativamente melhor quando comparada ao índigo carmim.

2.6 – COLETA DE BIÓPSIA

Uma pinça de biópsia adequada deve ser grande o suficiente para que a amostra coletada contenha mais camadas do que somente a mucosa. Desta forma, o exame histopatológico é mais completo, pois conseguirá avaliar além da camada mucosa as estruturas das vilosidades e criptas, no caso, do estômago de cães. Uma amostra pequena ou muito superficial pode não conter áreas de inflamação ou neoplasia que se localizam mais profundamente (VALENTINE, 2005).

Após a coleta, as amostras são colocadas em uma superfície plana, por exemplo papel filtro, que impede que a amostra enrole sobre si e preserva a integridade da mucosa (Figura 3). Na sequência a amostra é colocada em frasco contendo solução de formalina a 10%. Alguns patologistas preferem que as amostras sejam colocadas no papel filtro com a camada muscular voltada para baixo. Deste modo, no laboratório de histopatologia, quando as amostras forem incluídas em parafina, mantendo a mesma orientação do papel filtro, poderemos garantir uma secção de espessura total da amostra quando o bloco de parafina for cortado. O papel filtro também pode ser identificado, à caneta, com o nome da região coletada (VALENTINE, 2005).

O exame histopatológico é realizado para diferenciar o tecido normal do doente, caracterizar a natureza e severidade das alterações teciduais e fornecer um diagnóstico etiológico e morfológico precisos facilitando assim a formulação do prognóstico e terapia apropriada (DAY *et al.*, 2008; WASHABAU *et al.*, 2010)

Os avanços no diagnóstico por imagem possibilitam a detecção mais precisa e precoce das doenças dos animais. A constante evolução das cirurgias minimamente invasivas e da endoscopia em humanos encorajam estes procedimentos na medicina veterinária (FREEMAN, 2011).

2.7 – OBJETIVOS

- O objetivo principal deste trabalho foi demonstrar a aplicação da cromoendoscopia e confirmar a eficácia da técnica em relação à identificação de lesões, no trato digestório superior de cães;
- Descrever vantagens e desvantagens da cromoendoscopia no direcionamento das biópsias do trato digestório superior de cães;
- Correlacionar os achados endoscópicos pré e pós aplicação da técnica com os resultados histopatológicos.

3 – Material e Métodos

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – ANIMAIS

Este estudo contou com a participação de 10 animais adultos (6 fêmeas e 4 machos) após o consentimento esclarecido dos proprietários ou responsáveis. Estes animais eram provenientes do Canil Municipal de Botucatu, do Canil da UNESP FMVZ Botucatu e da rotina do Hospital Veterinário da UNESP FMVZ Botucatu.

3.2 – TRIAGEM E CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Como método de triagem, para que os animais pudessem ser submetidos à anestesia geral e coleta das biópsias, realizou-se hemograma completo, tempo de coagulação e avaliação física de todos eles. Os critérios de exclusão foram: hematócrito < 20 (35 – 42), hipo ou hiperproteïnemia (6 – 8), trombocitopenia < 80.000 (150.000 – 300.000), leucocitose ou leupenia importantes (6.000 – 17.000), aumento do tempo de coagulação (<12 min) ou dor, tensão exagerada ou aumento de órgãos à palpação abdominal.

3.3 – JEJUM E PROCEDIMENTO ANESTÉSICO

Previamente ao procedimento endoscópico, os animais foram submetidos a jejum sólido de 12 horas e hídrico de 2 horas.

O protocolo anestésico utilizado foi: morfina 0,3 mg/ Kg por via IM associada, no caso de animais muito agitados, a acepromazina 0,02 - 0,05 mg/ Kg por via IM como pré anestésicos.

Acesso venoso periférico com cateter de tamanho adequado para o porte do animal, seguido de fluidoterapia de manutenção 10ml/ kg/ h com Solução de Ringer Simples.

Indução com Propofol 5 – 10 mg/ Kg por via IV com velocidade de infusão dose – efeito seguido de intubação orotraqueal com sonda adequada para o porte do animal e manutenção do plano anestésico com Isoflurano acrescido de Oxigenioterapia a 100%.

Como anti-inflamatório administrou-se Meloxicam 0,2 mg/ Kg por via IV e em caso de peristaltismo exagerado que prejudicasse o exame, administrou-se Escopolamina (Buscopam simples) 1,5 mg/ animal por via IM.

3.4 - ENDOSCOPIA

Antes do início da EDA, como medida de proteção contra danos ao equipamento endoscópico, colocou-se um protetor de boca, desenvolvido pela nossa equipe, na cavidade oral do animal já anestesiado (Figura 2). O exame endoscópico do trato digestório superior seguiu o posicionamento e a rotina de inspeção segundo técnica descrita por Guilford (2005) e Tams (2011).

Sendo assim, posicionamos o animal em decúbito lateral esquerdo para facilitar o exame do piloro, pois o tráz para topo do abdômen, facilita o escoamento de líquido do piloro para o fundo gástrico, retira o peso do corpo e antro de cima do piloro facilitando assim, a passagem para o duodeno (GUILFORD, 2005; TAMS, 2011).

Para realização da EDA, CRE e coleta de biópsias utilizou-se videogastroscópio PENTAX¹, processadora de imagem PENTAX², monitor SONY³, cateter tipo spray OLYMPUS⁴ e pinça de biópsia OLYMPUS⁵.

As imagens e vídeos foram capturados do monitor diretamente para computador pessoal através de placa de captura de vídeo EASYCAP.

3.5 – ESCOLHA E APLICAÇÃO DOS CORANTES

Neste estudo, para a escolha dos corantes, não levou-se em consideração a suspeita clínica do animal, quando esta existia, já que o objetivo do trabalho é o de demonstrar a aplicação da técnica e a eficácia dos corantes previamente escolhidos. Sendo assim, os corantes escolhidos e instilados na mucosa do trato gastrointestinal dos animais foram: Lugol à concentração de 2%, Índigo Carmim a 0,1% e Azul de Metileno a 0,5%

¹ Modelo EG2540 – Tubo de inserção 8,4mm; canal de biópsia 2,4mm e comprimento 1.05m.

² Modelo EPM3500

³ Modelo NO.LMD-1410 LCD Monitor

⁴ Modelo PW-6P-1

⁵ Modelo FB 231K e FB 241K

3.5.1 - LUGOL

O Lugol foi o corante de escolha para aplicação na mucosa esofágica, devido a sua interação com o conteúdo glicogênico das células do epitélio estratificado não queratinizado presentes neste órgão (RATILAL *et al.*, 2002).

Uma particularidade histológica esofágica nos cães é que o epitélio estratificado pavimentoso é queratinizado e possui aberturas, com cerca de 1mm, dos canais das glândulas esofágicas (WASHABAU; DAY, 2013).

Após instilação de água na luz esofágica para retirada de muco e secreções, sem a necessidade do uso de mucolíticos, instilou-se de 10 a 50 ml (média de 20 ml) da solução de Lugol a 2% através de cateter spray. A instilação do corante iniciou-se próximo à junção esofagogástrica com progressão retrógrada até o esfíncter esofágico cranial. Dois minutos após sua aplicação, a mucosa foi lavada com água para retirada do excesso do corante e então avaliada para identificação de áreas iodo-claras ou iodo-negativas que foram biopsiadas (RATILAL *et al.*, 2002; SOBED, 2008).

3.5.2 – ÍNDIGO CARMIM

O Índigo Carmim, corante de escolha para aplicação na mucosa gástrica, não penetra no meio intra-celular e permite destacar os contornos e melhor salientar a topografia da mucosa. Por não ser absorvido e ser rapidamente eliminado é praticamente inócuo (RATILAL *et al.*, 2002).

Utilizando a forma direta de aplicação do corante, sem a necessidade prévia do uso de mucolíticos, instilou-se 20 a 30 ml do corante a 0,2% em toda mucosa gástrica. Utilizando cateter spray, iniciou-se a instilação na região do antro-piloro com progressão retrógrada para o corpo e finalmente na região fúndica. As áreas destacadas em azul-violeta foram biopsiadas (RATILAL *et al.*, 2002; FAGUNDES, 2005).

3.5.3 - DUODENO

Por último, este trabalho avaliou quando acessível, apenas o primeiro seguimento intestinal, o duodeno. Neste órgão utilizou-se Azul de Metileno, corante que é absorvido e acumulado no citoplasma das células da mucosa do intestino delgado e do cólon. Utilizado também para realçar o epitélio de Barrett (metaplasia intestinal especializada) uma vez que não é absorvido pelas células escamosas do esôfago nem pela mucosa gástrica (RATILAL *et al.*, 2002).

Após prévia instilação de água para retirada do excesso de muco, instilou-se 20 ml do corante na concentração de 0,5% através de cateter spray. A instilação iniciou-se na porção duodenal distal com progressão retrógrada até a primeira porção duodenal, região de bulbo. Em seguida realizou-se lavagem da mucosa com água (média de 50ml) até o padrão da coloração ficar estável. Então, a mucosa foi avaliada para identificação de áreas coradas em azul, sendo que as áreas não coradas foram alvo das biópsias (RATILAL *et al.*, 2002; FAGUNDES, 2005).

3.6 - BIÓPSIAS

Neste trabalho, foram coletadas duas amostras de biópsia de cada uma das seguintes regiões: porção distal do esôfago, antro, corpo, fundo gástrico e duodeno, quando acessível.

Animais que não possuíam lesões visíveis ao exame convencional e nem após aplicação da técnica de CRE tiveram biópsias coletadas aleatoriamente das regiões citadas acima.

Animais que possuíam lesões visíveis ao exame convencional ou à cromoscopia tiveram estas lesões coletadas seguindo o critério das regiões citadas anteriormente.

As amostras foram colocadas sobre um retângulo de papel filtro e na sequencia em recipiente contendo solução de formalina neutra tamponada a 10%. O frasco foi identificado com o nome do animal, data e região coletada. As amostras permaneceram na formalina entre 24 e 48 horas no máximo para fixação. Em seguida, foram encaminhadas ao Serviço de Patologia onde realizou-se procedimento padrão para inclusão das amostras em parafina. Após este procedimento os cortes realizados

foram de 4 a 5 micrômetros, as lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina e examinadas sob microscopia de luz por um patologista veterinário.

Neste trabalho, identificou-se apenas a presença ou ausência de lesão na mucosa dos órgãos avaliados correlacionando a ação esperada dos corantes utilizados com os achados histopatológicos.

Nas últimas duas décadas, muitos grupos independentes, de Médicos Veterinários, desenvolveram e aplicaram diferentes sistemas de classificação para caracterização da natureza e severidade das alterações inflamatórias gastrointestinais. Estas alterações foram graduadas em normal, leve, moderada e grave de acordo com a predominância de células inflamatórias na lâmina própria.

Embora esta abordagem pareça lógica, o critério específico definido pelos vários grupos tem divergido ao ponto de impossibilitar a comparação das alterações histopatológicas nos diferentes estudos. Mesmo quando um critério específico era aplicado, variações significativas ocorriam entre as interpretações de diferentes patologistas sobre as alterações nas amostras de tecido gastrointestinal (DAY *et al.*, 2008; WASHABAU *et al.*, 2010).

3.7 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

A concordância, a reprodutibilidade e o grau de significância entre os exames foram avaliados através do teste de Kappa ($p < 0,05$). O valor de Kappa varia de 0 a 1 onde quanto mais próximo o resultado for da unidade maior a concordância entre os testes. Outro teste utilizado foi o Qui quadrado (X^2) com $p < 0,05$ para estimar a associação entre os sinais endoscópicos e os resultados histopatológicos.

Realizou-se também, entre outras análises, a estimativa da acurácia que demonstra o quanto o teste se aproximou do diagnóstico real, variando de 0 a 100%.

4 - Resultados

4 – RESULTADOS

Em todas as análises estatísticas realizadas, a endoscopia convencional (E.C.) e a cromendoscopia (CRE) foram comparadas ao exame histopatológico definido como padrão ouro de diagnóstico.

O número de amostras colhidas de cada animal neste trabalho, pode ser observado na Tabela 1.

TABELA 1 - Número de amostras colhidas de cada animal de acordo com o órgão avaliado.

Animal	Esôfago		Estômago		Duodeno*	Total
	----	Fundo	Corpo	Antro piloro	----	----
1	2	2	2	2	0	8
2	2	2	2	2	0	8
3	2	2	2	2	2	10
4	2	2	2	2	2	10
5	2	2	2	2	0	8
6	2	2	2	2	2	10
7	2	2	2	2	0	8
8	2	2	2	2	2	10
9	2	2	2	2	2	10
10	2	2	2	2	0	8
Total	20	20	20	20	10	90

* - A avaliação duodenal e consequente coleta de biópsia não foram realizadas em 5 animais devido à impossibilidade de transposição do piloro.

Na Tabela 2, está representada a correlação entre as amostras colhidas e avaliadas à histopatologia.

TABELA 2 - Correlação entre amostras colhidas de cada órgão e amostras avaliadas pela histopatologia.

Órgão/ região	Colhidas	Histopatologia	
	n	n	%
Esôfago	20	12 ⁽²⁾	60
Estômago	-	-	-
Fundo	20	20	100
Corpo	20	20	100
Antro piloro	20	20	100
Duodeno	10 ⁽¹⁾	10 ⁽¹⁾	100
Total	90	82	82,22

⁽¹⁾ – Avaliação e coleta de biópsia duodenal realizada em apenas 5 animais.

⁽²⁾ – Ausência de material nas amostras coletada de 4 animais.

A correlação entre amostras avaliadas e diagnósticos histopatológicos positivos e negativos está representada na Tabela 3.

TABELA 3 - Correlação entre o número de amostras avaliadas e o número de amostras positivas (+) ou negativas (-) no exame histopatológico para cada região.

Órgão/ região	Avaliadas	Resultados histopatológicos	
	n	+	-
		n/ %	n/ %
Esôfago	12	4/ 33,33	8/ 66,66
Estômago	-		
Fundo	20	12/ 60	8/ 40
Corpo	20	12/ 60	8/ 40
Antro piloro	20	10/ 50	10/ 50
Duodeno	10	8/ 80	2/ 20

A associação entre a presença (+) ou ausência (-) de lesões no exame convencional, cromoendoscopia e histopatologia nos animais avaliados, está apresentada na Tabela 4 e Figuras de 4 a 8.

TABELA 4 – Número de animais com presença (+) ou ausência (-) de lesões em cada região avaliada ao exame convencional, cromoendoscopia e histopatologia.

Órgão/ região	Endoscopia convencional		Cromoendoscopia		Histopatologia	
	+	-	+	-	+	-
Esôfago	1	5	3	3	2	4
Estômago	----	----	----	----	----	----
Fundo	4	6	3	7	6	4
Corpo	2	8	5	5	6	4
Antro	8	2	8	2	5	5
piloro						
Duodeno	1	4	1	4	4	1
Total	16	25	20	21	23	18

Para interpretação da concordância e da reprodutibilidade utilizou-se os valores indicados nas Tabelas 5 e 6 respectivamente.

TABELA 5 - Valores e interpretação do teste Kappa.

Valores de Kappa	Interpretação
<0	Testes sem concordância
0 – 0,19	Concordância ruim
0,20 – 0,39	Concordância razoável
0,40 – 0,59	Concordância moderada, média
0,60 – 0,79	Concordância considerável, importante
0.80 - 1	Concordância quase perfeita

Fonte: LANDIS e KOCH (1977).

TABELA 6 - Diretrizes para avaliação do Kappa.

Valores	Interpretação
$K > .75$	indica excelente reprodutibilidade
$.40 \leq K \leq .75$	indica boa reprodutibilidade
$0 \leq K < .40$	indica reprodutibilidade marginal

Fonte: ROSNER, B. (2006)

4.1 – ESÔFAGO

Para a E.C. o teste de Kappa apresentou – se significativo ($p=0,0142$), com concordância moderada e boa reprodutibilidade. Na CRE

o teste de Kappa apresentou – se significativo ($p=0,0072$), com concordância importante e boa reprodutibilidade.

Tanto para a E.C. quanto para a CRE , o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,3458$ e $0,4076$ respectivamente. Sendo assim, as proporções observadas nas duas técnicas concordam com as proporções esperadas pelo exame histopatológico.

A acurácia dos dois exames foi elevada (83,33%) o que demonstra a alta capacidade dos testes em acertar o diagnóstico com a utilização do Lugol nos animais avaliados.

A CRE apresentou maior sensibilidade enquanto a E.C. demonstrou-se mais específica. O valor preditivo negativo (VPN) das duas técnicas foi elevado, mas foi maior na CRE. Este resultado indica a elevada probabilidade da E.C. e da CRE em reconhecer os indivíduos com exames negativos e que realmente não possuam lesão. Os dados podem ser observados na Tabela 7.

TABELA 7 - Acurácia da E.C. e da CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) no esôfago.

	ESÔFAGO	
	Endoscopia convencional	Cromoendoscopia
Sensibilidade	50%	100%
Especificidade	100%	75%
Falso positivo	0%	25%
Falso negativo	50%	0%
VPP	100%	66,67%
VPN	80%	100%
Acurácia	83,33%	83,33%
Kappa	0,5714	0,6667
p (Kappa)	0,0142	0,0072
X2	0,889	0,686
p (X2)	0,3458	0,4076

4.2 – FUNDO

Para a E.C. o teste de Kappa apresentou – se não significativo ($p=0,2280$), não havendo concordância entre os testes e fraca reprodutibilidade. Para a CRE o teste de Kappa apresentou – se significativo ($p=0,0084$), com concordância moderada e boa reprodutibilidade.

Tanto para a E.C. quanto para a CRE, o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,2059$ e $0,0565$ respectivamente. Sendo assim, as proporções observadas nas duas técnicas concordam com as proporções esperadas pelo exame histopatológico.

A acurácia da CRE foi elevada em comparação à E.C. demonstrando a alta capacidade do exame em acertar o diagnóstico com a utilização do Índigo Carmim nos animais avaliados. A especificidade elevada indica a capacidade do exame em reconhecer os animais saudáveis e o VPP alto revela a capacidade de identificar indivíduos com testes positivos que realmente possuam lesão. Nesta região gástrica a CRE foi superior à E.C. em todas as variáveis analisadas. Os dados podem ser observados na Tabela 8.

TABELA 8 - Acurácia da E.C. e CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) para a região de fundo gástrico.

	FUNDO GÁSTRICO	
	Endoscopia convencional	Cromoendoscopia
Sensibilidade	33,33%	50%
Especificidade	50%	100%
Falso positivo	50	0
Falso negativo	66,67	50
VPP	50%	100%
VPN	33,33%	57,14%
Acurácia	40%	70%
Kappa	-0,1538	0,4444
p (Kappa)	0,2280	0,0084
X^2	1,60	3,636
p (X^2)	0,2059	0,0565

4.3 – CORPO

Para a E.C. o teste de Kappa apresentou – se não significativo ($p=0,3240$), não havendo concordância entre os testes e fraca reprodutibilidade. O teste Kappa para a CRE apresentou – se significativo ($p=0,0339$), com concordância moderada e reprodutibilidade fraca.

Na E.C. o teste X^2 apresentou resultado significativo com $p = 0,0239$ demonstrando que as proporções observadas na E.C. não concordam com as proporções esperadas no exame histopatológico.

Já na CRE o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,5250$ demonstrando que as proporções observadas na CRE concordam com as proporções esperadas no exame histopatológico.

A acurácia da CRE foi elevada em comparação à E.C. demonstrando a capacidade do exame em acertar o diagnóstico com a utilização do Índigo Carmim nos animais avaliados. A especificidade elevada nas duas técnicas indica a capacidade dos exames em reconhecerem os animais saudáveis. O VPP alto da CRE revela a capacidade do exame em identificar indivíduos com testes positivos que realmente possuam lesão. Nesta região gástrica a CRE também foi superior a E.C. em todas as variáveis analisadas. Os dados podem ser observados na Tabela 9.

TABELA 9 - Acurácia da E.C. e CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) para a região de corpo gástrico.

	CORPO GÁSTRICO	
	Endoscopia convencional	Cromoendoscopia
Sensibilidade	16,67%	66,67%
Especificidade	75%	75%
Falso positivo	25%	25%
Falso negativo	83,33%	33,33%
VPP	50%	80%
VPN	37,50%	60%
Acurácia	40%	70%
Kappa	-0,0714	0,4
p (Kappa)	0,3240	0,0339
X^2	5,104	0,404
p (X^2)	0,0239	0,5250

4.4 – ANTRO PILORO

Para a E.C. o teste de Kappa apresentou – se não significativo ($p=0,5000$), com uma concordância ruim entre os testes e fraca reprodutibilidade. O teste Kappa para a CRE apresentou – se significativo ($p=0,0127$), com concordância moderada e reprodutibilidade fraca.

Tanto para a E.C. quanto para a CRE, o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,0974$ para as duas técnicas. Sendo assim, as proporções observadas nas duas técnicas concordam com as proporções esperadas pelo exame histopatológico.

A acurácia da CRE foi elevada em comparação à E.C. demonstrando a capacidade do exame em acertar o diagnóstico com a utilização do Índigo Carmim nos animais avaliados. A sensibilidade, que é a capacidade do teste em reconhecer os animais com lesão, foi elevada nas duas técnicas sendo maior na CRE. O VPN alto da CRE revela a capacidade do exame em identificar indivíduos com testes negativos que realmente não possuam lesão. Os resultados mostraram também uma porcentagem elevada de falsos positivos para E.C. que podem ter relação com o corante escolhido, com as dificuldades encontradas durante o exame ou à própria técnica utilizada. Nesta região gástrica, a CRE foi mais uma vez superior à E.C. em todas as variáveis analisadas. Os dados podem ser observados na Tabela 10.

TABELA 10 - Acurácia da E.C. e CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) para a região de antro piloro.

	ANTRO PILORO	
	Endoscopia convencional	Cromoendoscopia
Sensibilidade	80%	100%
Especificidade	20%	40%
Falso positivo	80%	60%
Falso negativo	20%	0%
VPP	50%	62,50%
VPN	50%	100%
Acurácia	50%	70%
Kappa	0	0,4
p (Kappa)	0,5	0,0127
X²	2,747	2,747
p (X²)	0,0974	0,0974

4.5 – DUODENO

Todas as variáveis avaliadas neste órgão obtiveram o mesmo resultado. Tanto para técnica de E.C. quanto para a CRE o teste de Kappa apresentou – se não significativo ($p=0,2146$), com concordância ruim e fraca reprodutibilidade. Já o teste X^2 , apresentou resultado significativo com $p = 0,0253$ demonstrando que as proporções observadas nas duas técnicas não concordam com as proporções esperadas no exame histopatológico.

A acurácia das técnicas foi baixa (40%) demonstrando a baixa capacidade dos testes em acertar o diagnóstico com a utilização do Azul de Metileno nos animais avaliados. Os testes foram muito específicos, mas pouco sensíveis. Os resultados mostraram também uma porcentagem elevada de falsos negativos e de VPP (100%) que concorda com os falsos positivos (0%). O VPP indica a elevada probabilidade da E.C. e da CRE em reconhecer os indivíduos com exames positivos e eles realmente possuem lesão. Os dados podem ser observados na Tabela 11.

TABELA 11 - Acurácia da E.C. e da CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) no duodeno.

	DUODENO	
	Endoscopia convencional	Cromoendoscopia
Sensibilidade	25%	25%
Especificidade	100%	100%
Falso positivo	0%	0%
Falso negativo	75%	75%
VPP	100%	100%
VPN	25%	25%
Acurácia	40%	40%
Kappa	0,1176	0,1176
p (Kappa)	0,2146	0,2146
X²	5,0	5,0
p (X²)	0,0253	0,0253

4.6 – ESTÔMAGO (FUNDO, CORPO E ANTRO PILORO)

Avaliando o estômago sem dividi-lo em regiões, obtivemos os resultados a seguir.

Para a E.C. o teste de Kappa apresentou – se não significativo ($p=0,1648$), não havendo concordância entre os testes e uma fraca reprodutibilidade. Já na CRE o teste apresentou – se significativo ($p=0,0011$), com concordância razoável e reprodutibilidade fraca.

Tanto para a E.C. quanto para a CRE, o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,2731$ e $0,7136$ respectivamente. Desta forma, as proporções observadas nas duas técnicas concordam com as proporções esperadas pelo exame histopatológico.

A acurácia da CRE foi maior em comparação à E.C. demonstrando maior capacidade do exame em acertar o diagnóstico com a utilização do Índigo Carmim nos animais avaliados. A sensibilidade e especificidade da CRE obtiveram resultados parecidos, o que indica tanto a capacidade das técnicas em reconhecerem os doentes quanto em reconhecerem os saudáveis respectivamente. O VPP elevado da CRE está diretamente relacionado com a sensibilidade revelando a capacidade do exame em identificar indivíduos com testes positivos que realmente possuam lesão. Os dados podem ser observados na Tabela 12.

TABELA 12 - Acurácia da E.C. e CRE em relação ao exame histopatológico (padrão ouro) para o estômago.

ESTÔMAGO		
	Endoscopia convencional	Cromoendoscopia
Sensibilidade	41,18%	70,59%
Especificidade	46,15%	69,23%
Falso positivo	53,85%	30,77
Falso negativo	58,82%	29,41
VPP	50%	75%
VPN	37,50%	64,29
Acurácia	43,33%	70%
Kappa	-0,1233	0,3946
p (Kappa)	0,1648	0,0011
X²	1,201	0,135
p (X²)	0,2731	0,7136

5 – Discussão

5 – DISCUSSÃO

5.1 – APLICAÇÃO DA TÉCNICA

A técnica de cromoendoscopia (CRE) demonstrou-se de fácil aplicação como relatado por Fagundes (2005), mas necessita de habilidade, ao menos mediana, no manejo do equipamento endoscópico para que seja realizada com eficiência.

5.2 – POSICIONAMENTO DO ANIMAL PARA O EXAME

Ao final do primeiro procedimento realizado neste trabalho, observou-se episódios de tosse após a extubação e recuperação anestésica do animal. Estes episódios cessaram após uma hora do término do procedimento sendo assim associados ao refluxo esofágico de Lugol e irritação da faringe e laringe do animal. Nos procedimentos seguintes o posicionamento inicial do animal para o exame foi modificado e com sucesso evitou-se o refluxo esofágico do Lugol e conseqüentemente novos episódios de tosse. Sendo assim, os animais realizaram os exames posicionados em decúbito lateral esquerdo com elevação do tórax há aproximadamente 30° em relação à mesa.

5.3 – ALTERAÇÃO DA SEQUENCIA DO EXAME

A sequencia padrão da endoscopia convencional do trato gastrointestinal (sem aplicação dos corantes) é a seguinte: avaliação esofágica, gástrica (fundo, corpo e antro piloro) e duodenal, quando acessível. Após o exame convencional, realizou-se a cromoendoscopia (CRE) com avaliação e biópsia duodenal primeiramente (quando acessível), seguido da cromoendoscopia, avaliação e biópsia gástrica e por fim, esofágica.

Durante o exame do primeiro animal, no momento da aplicação da CRE no estômago, observou-se um refluxo enterogástrico moderado de Azul de Metileno (instilado no duodeno anteriormente) que interferia na interpretação das lesões gástricas.

Diante deste fato, alterou-se a sequencia da CRE para: primeiramente CRE, avaliação e biópsia gástrica, na sequencia duodenal, quando acessível e por fim esofágica.

Esta ação evitou o refluxo enterogástrico de Azul de Metileno durante a avaliação gástrica.

5.4 – VANTAGENS E DESVANTAGENS

Utilizando os corantes escolhidos a CRE demonstrou-se vantajosa no direcionamento e aquisição de amostras de biópsia do trato digestório superior de cães quando comparada à E.C. Porém, chamamos a atenção para os dados a seguir.

A especificidade e a porcentagem de falso positivo obtiveram os mesmo valores para as duas técnicas na região de corpo gástrico.

A especificidade, a porcentagem de falso positivo e o VPP da E.C. no esôfago, foram maiores do que na CRE. A acurácia foi a mesma para as duas técnicas, mas a CRE apresentou um maior valor de concordância entre os métodos diagnósticos para este órgão.

Muitas lesões discretas realmente foram destacadas e lesões perceptíveis à endoscopia convencional foram melhor delimitadas. As desvantagens no uso da CRE podem estar relacionadas à escolha inadequada do corante frente ao histórico do animal, à dificuldade de aquisição dos corantes e no custo elevado do cateter tipo spray adequado para realização da técnica.

No esôfago, seis amostras de biópsia (3 animais) não continham material suficiente para análise histopatológica e duas amostras coletadas (1 animal) não continham material algum. Este resultado pode ser atribuído ao número limitado de animais do estudo e à dificuldade de coleta das amostras, já que o esôfago dos cães possui epitélio queratinizado (mais resistente). Os resultados falsos positivos e negativos das duas técnicas e a baixa sensibilidade da E.C. neste órgão podem ser decorrentes das dificuldades técnicas encontradas durante o exame ou das lesões precoces perceptíveis apenas quando utilizou-se a CRE (sensibilidade 100% no esôfago). Regiões que na E.C. não apresentavam

alterações ficaram fracamente coradas à CRE (2 animais) e foram classificadas como positivas. Estas biópsias apresentaram esofagite mononuclear ao exame histopatológico.

Avaliando as 3 regiões gástricas individualmente observou-se em todas elas, elevada acurácia do método de CRE. A eficácia da CRE pode ser vista pela sensibilidade e VPP alto para as 3 regiões (valor mais baixo para antro piloro). A sensibilidade é responsável por identificar indivíduos com lesão enquanto o VPP é a capacidade do teste identificar a lesão e esta realmente ser compatível com o exame histopatológico. Mais uma vez, as dificuldades encontradas durante o exame, a técnica ou a escolha do corante, fez com que os resultados falso positivo e negativo fossem sempre maiores na E.C., fato apenas não observado na região de corpo gástrico onde os resultados foram iguais.

Algumas regiões destacadas pelo Índigo Carmim não apresentaram lesão à histopatologia, falso positivo de 60% na região de antro piloro. Outras regiões em que o padrão da coloração foi homogêneo apresentaram lesões, falso negativo elevado na região fúndica e moderado no corpo gástrico.

Avaliando o estômago sem subdividi-lo por regiões, a acurácia e a sensibilidade da CRE mantêm-se alta. Os falso positivos aumentaram em relação à região de fundo e corpo, mas diminuíram em relação ao antro piloro. Já os falso negativos diminuíram em relação a região fúndica e corpo, mas aumentaram em relação ao antro piloro. Sendo assim, a CRE demonstrou-se mais eficaz na avaliação individualizada das regiões gástrica do que no estômago como um todo.

No duodeno os testes obtiveram os mesmos resultados que podem ser atribuídos ao baixo número de animais do estudo e ao baixo sucesso de transposição do piloro em metade dos animais examinados. A acurácia do teste foi baixa e conforme demonstrado nos resultados, a CRE utilizando Azul de Metileno não apresentou vantagem diagnóstica quando comparada à E.C. nos animais avaliados. As lesões histopatológicas (processos inflamatórios) encontradas no duodeno foram coradas normalmente com o Azul de Metileno, já que este corante é absorvido pelo citoplasma das células intestinais. Os resultados nos mostraram

também 75% de falsos negativos que podem estar relacionados às dificuldades técnicas encontradas durante o exame ou à lavagem insuficiente da mucosa duodenal para estabilização adequada do corante instilado.

Não foram encontrados trabalhos na medicina veterinária sobre este assunto para comparação, portanto, na tentativa de contornar os problemas encontrados neste estudo e confrontar os resultados obtidos sugere-se:

- Aumentar o número de animais avaliados aumentando assim a possibilidade de encontrar lesões diferentes das encontradas neste estudo;
- Utilizar corantes diferentes nos mesmos órgãos avaliados neste estudo verificando a ação dos mesmos;
- Aprimorar a técnica de CRE para o uso em animais de companhia. Padronizar o volume adequado de cada corante instilado, o tempo de contato com a mucosa para posterior avaliação, o volume necessário de água utilizada para lavagem da mucosa após a instilação do corante entre outros;
- Coletar um número maior de amostras ou utilizar equipamento endoscópico e pinça de biópsia maior do que as utilizadas neste estudo. Estas escolhas têm o objetivo de diminuir as coletas com material insuficiente para avaliação histopatológica ou mesmo amostras sem material.

6 – Conclusões

6 – CONCLUSÕES

De acordo com os corantes escolhidos, a técnica aplicada e com os animais avaliados concluímos que:

- A CRE é de fácil aplicação, mas é necessária habilidade no mínimo mediana do endoscopista no manejo do equipamento endoscópico para que a técnica seja aplicada de forma eficiente;
- A CRE apresentou vantagem no direcionamento e aquisição de amostras de biópsia no trato digestório superior dos cães sendo que no esôfago, a acurácia das técnicas obteve o mesmo resultado;
- A CRE quando realizada no estômago apresenta melhores resultados se as regiões gástricas forem avaliadas isoladamente;
- Os corantes apresentaram dificuldade razoável para aquisição;

7 - Bibliografia

7 – BIBLIOGRAFIA

AMANO, Y. *et al.* Crystal violet chromoendoscopy with mucosal pit pattern diagnosis is useful for surveillance of short-segment Barrett's esophagus. **The American journal of gastroenterology**, v. 100, n. 1, p. 21–6, jan. 2005.

ARAÚJO, I. C.; FERREIRA, A.R. Infecção por *Helicobacter spp.*, em gatos- Revisão **Rev. Clin. Vet.**São Paulo, n. 7, p. 41-50, 2002.

BENEVENTO,S.; FERREIRA, A.R. Estudo histopatológico das gastropatias caninas e felinas. **Rev. brás. Méd. Vet.**, Niterói, v. 24, n. 2, p. 81-84, 2002.

BRANDÃO, C. *et al.* CROMOENDOSCOPIA DE AMPLIAÇÃO DE LESÕES POLIPÓIDES GÁSTRICAS. **Jornal Português de Gastroenterologia**, v. 13, n. 6, p. 126–130, 2006.

CHAMNESS, C. J. Introduction to Veterinary Endoscopy and Endoscopic Instrumentation, History of Endoscopy. In: McCARTHY, T. C. **Veterinary Endoscopy for the Small Animal Practitioner**.Missouri: Elsevier Saunders, 2005. p. 01-20.

COSTA, P. R. . *et al.* Endoscopia gastroduodenal após administração de nimesulida, monofenilbutazona e meloxicam em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 04, p. 903–909, 2007.

DAY, M. J. *et al.* Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. **Journal of comparative pathology**, v. 138 Suppl , p. S1–43, 2008.

FAGUNDES, R. B. Cromoendoscopia de esôfago e estômago. In: MAGALHÃES, A. F. et al. **SOBED Endoscopia Digestiva Diagnóstica e Terapêutica**. 1 ed. Rio de Janeiro. Revinter, 2005. p 106-119.

FALLIN, E. A.; LEIB, M. S.; TREVOR, P. Endoscopy case of the month. **Vet. Med., Lenexa**, v. 91, p. 202-206, 1996.

FAVARATO, E. S.; SOUZA, M. V. DE S.; COSTA, P. R. DOS S. Refluxo gastroesofágico em cães anestesiados: fisiopatologia, clínica, diagnóstico e terapêutica. **Ciência Rural**, v. 40, n. 11, p. 2427–2434, 2010.

FOY, D. S.; BACH, J. F. Endoscopic polypectomy using endocautery in three dogs and one cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 46, n. 3, p. 168–73, 2010.

FREEMAN, L. New Technologies on the Horizon. In: TAMS, T. R.; RAWLINGS, C. A. **Small Animal Endoscopy**. 3°. ed. St. Louis: [s.n.], 2011. Cap. 24, p. 682.

GUALTIERI, M.; OLIVERO, D. Reflux esophagitis in three cats associated with metaplastic columnar esophageal epithelium. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 42, p. 65–70, 2006.

GUILFORD, W. G. Upper Gastrointestinal Endoscopy. In: MCCARTHY, T. C. **Veterinary Endoscopy for the Small Animal Practitioner**. 1 ed. Beaverton. Elsevier, 2005, p. 279-321.

HAN, E.; BROUSSARD, J.; BAER, K. E. Feline esophagitis secondary to gastroesophageal reflux disease: clinical signs and radiographic, endoscopic, and histopathological findings. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 39, n. 2, p. 161–7, 2003.

HAYES, G. Gastrointestinal foreign bodies in dogs and cats: a retrospective study of 208 cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. November, p. 576–583, 2009.

HERNÁNDEZ, C.; GALLÓN, G.; RESTREPO, L. Análisis de biopsias gástricas endoscópicas en caninos. **Revista Colombiana de Pecuária**, v. 20, p. 250–259, 2007.

ITOI, T. *et al.* A novel approach emphasizing preoperative margin enhancement of tumor of the major duodenal papilla with narrow-band imaging in comparison to indigo carmine chromoendoscopy (with videos). **Gastrointestinal endoscopy**, v. 69, n. 1, p. 136–41, jan. 2009.

KANTHAN, R. *et al.* Endoscopic biopsies of duodenal polyp/mass lesions: a surgical pathology review. **Journal of clinical pathology**, v. 63, n. 10, p. 921–5, out. 2010.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, n. 1, p. 159–74, mar. 1977.

LECOINDRE, P. *et al.* Pathogenic role of gastric *Helicobacter* sp in domestic carnivores. **Veterinary research**, v. 28, n. 33, p. 207–215, 1997.

LHERMETTE, P. (Ed); SOBEL, D. (Ed) An introduction to endoscopy and endosurgery. In: LHERMETTE, P.; SOBEL, D. **BSAVA Manual of Canine and Feline Endoscopy and Endosurgery**. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2008, p. 01-10.

LESSELLS, A. M.; MARTIN, D. F. Heterotopic gastric mucosa in the duodenum. **Journal of Clinical Pathology**, v. 35, n. 6, p. 591–595, 1 jun. 1982.

NIVELONI, S. *et al.* Usefulness of videoduodenoscopy and vital dye staining as indicators of mucosal atrophy of celiac disease: assessment of

interobserver agreement. **Gastrointestinal endoscopy**, v. 47, n. 3, p. 223–9, mar. 1998.

RATILAL, P. O. *et al.* Artigo de Revisão / Review Article CROMOENDOSCOPIA: PORQUÊ COLORIR? **GE - J. Port Gastroenterol**, v. 9, p. 340–346, 2002.

ROCHE, H. J. *et al.* Hyperplastic polyps of the duodenum: an unusual histological finding. **Journal of clinical pathology**, v. 59, n. 12, p. 1305–6, dez. 2006.

ROSNER, G. G. **Fundamentals of Biostatistics**. 17°. ed. Boston: brooks/cole cengage learning, 2011.

SATODATE, H. *et al.* Squamous reepithelialization after circumferential endoscopic mucosal resection of superficial carcinoma arising in Barrett's esophagus. **Endoscopy**, v. 36, n. 10, p. 909–12, out. 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOSCOPIA DIGESTIVA (SOBED). **Cromoscopia com lugol na detecção do câncer de esôfago**. São Paulo, 2008.

SORBI, D.; GOSTOUT, C. J. Polyp Identification and Marking: Chromoscopy, Tattooing, and Clipping. **Techniques in Gastrointestinal Endoscopy**, v. 2, p. 2–8, 2000.

SWANN, H. M.; HOLT, D. E. Canine gastric adenocarcinoma and leiomyosarcoma: a retrospective study of 21 cases (1986-1999) and literature review. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 38, n. 2, p. 157–64, 2002.

TAMS, T.R.. Gastroscopy. In: TAMS, T. R.; RAWLINGS, C. A. **Small Animal Endoscopy**. 3 ed. Missouri: Elsevier Mosby, 2011. p. 97-172.

TINCANI, A. J. *et al.* A importância da endoscopia digestiva alta com solução de lugol no diagnóstico de câncer superficial e displasia em esôfago de doentes com neoplasias. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 37, n. 2, p. 107–113, abr. 2000.

VALENTINE, B. A. Endoscopic Biopsy Handling And Histopatology. In: MCCARTHY, T. C. **Veterinary Endoscopy For The Small Animal Practitioner**. 3. ed. St Lois: Elsevier Saunders, 2005. Cap. 03, p. 31-47.

WASHABAU, R. *et al.* Endoscopic, Biopsy, and Histopathologic Guidelines for the Evaluation of Gastrointestinal Inflammation in Companion Animals. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 1, p. 10–26, jan. 2010.

WASHABAU, R. J.; DAY, M. J. Esophagus. In: WASHABAU, R. J.; DAY, M. J. **Canine & Feline Gastroenterology**. 1°. ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013. Cap. 55, p. 996.

WASHABAU, R. J.; DAY, M. J. Small Intestine. In: WASHABAU, R. J.; DAY, M. J. **Canine & Feline Gastroenterology**. 1°. ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013. Cap. 57, p. 996.

WASHABAU, R. J.; DAY, M. J. Stomach. In: WASHABAU, R. J.; DAY, M. J. **Canine & Feline Gastroenterology**. 1°. ed. St.Louis: Elsevier Saunders, 2013. Cap. 56, p. 996.

8 – TRABALHO CIENTÍFICO

Trabalho a ser enviado para revista Veterinária e Zootecnia.

**APLICAÇÃO E CONTRIBUIÇÃO DA CROMOENDOSCOPIA COM
LUGOL, ÍNDIGO CARMIM E AZUL DE METILENO NO TRATO
DIGESTÓRIO SUPERIOR DE CÃES**

**ENFORCEMENT AND CONTRIBUTION LUGOL, INDIGO CARMINE
AND METHYLENE BLUE CHROMOENDOSCOPY IN THE DOGS
UPPER DIGESTIVE TRACT**

**APLICACIÓN Y CONTRIBUCIÓN DE LA CROMOENDOSCOPIA CON
LUGOL, ÍNDIGO CARMÍN Y AZUL DE METILENO EN EL TRACTO
DIGESTIVO SUPERIOR DE LOS PERROS**

APLICAÇÃO E CONTRIBUIÇÃO DA CROMOENDOSCOPIA COM LUGOL, ÍNDIGO CARMIM E AZUL DE METILENO NO TRATO DIGESTÓRIO SUPERIOR DE CÃES

RESUMO

A Cromoendoscopia é definida como a aplicação tópica de corantes aquosos na mucosa do trato gastrointestinal. Estes corantes tem a função de evidenciar alterações precoces ou discretas que passariam despercebidas ao exame convencional, permitindo assim a coleta de tecido alterado ou o acompanhamento de doenças pré existentes. Na Medicina Veterinária, não foram encontrados trabalhos que tenham utilizado esta técnica, mas há muitas situações em que ela pode ser empregada como na pesquisa ou no acompanhamento de: esofagites (como esôfago de Barrett em humanos), lesões gástricas erosivas ou polipóides e lesões duodenais. Neste trabalho realizamos, em dez animais adultos, exame de endoscopia digestiva alta (EDA) seguida de cromosendoscopia (CRE) e coleta de biópsia de esôfago, estômago (fundo, corpo e antro piloro) e duodeno quando acessível. As biópsias foram enviadas para exame histopatológico e identificação de presença ou ausência de lesão no material coletado. O objetivo deste trabalho foi demonstrar a aplicação da técnica de cromosendoscopia em cães, avaliar sua eficácia quanto à identificação e delimitação de lesões no trato digestório superior destes animais e correlacionar os achados endoscópicos pré e pós aplicação da técnica com os resultados histopatológicos. A correlação da E.C. e da CRE com o exame histopatológico (padrão ouro) foi avaliada através do teste de Kappa e os resultados demonstraram concordância importante na cromosendoscopia (CRE) de esôfago com acurácia de 83,33%. Concordância moderada na endoscopia convencional (E.C.) de esôfago e na CRE de fundo, corpo e antro piloro com acurácia de 83,33%, 70%, 70% e 70% respectivamente. Concordância razoável na CRE de estômago com acurácia de 70%. Concordância ruim na E.C. de antro e na E.C. e CRE de duodeno com acurácia de 50%, 40% e 40% respectivamente. Não houve concordância entre os testes na E.C. de fundo, corpo e estômago com acurácia de 40%, 40% e 43,33% respectivamente. A CRE apresenta um grau de dificuldade moderado em sua aplicação e é eficaz no direcionamento da colheita de biópsias de esôfago e estômago.

Palavras-chave: cromosendoscopia, cães, lugol, índigo carmin, azul de metileno.

**ENFORCEMENT AND CONTRIBUTION LUGOL, INDIGO CARMINE AND
METHYLENE BLUE CHROMOENDOSCOPY IN THE DOGS UPPER DIGESTIVE
TRACT**

ABSTRACT

Chromoendoscopy is defined as the topical application of aqueous dye in the gastrointestinal tract mucosa. These dyes have the function of showing early changes or discrete those go unnoticed to the conventional examination, allowing the tissue changes collection or monitoring preexisting diseases. In Veterinary Medicine, there were no studies that have used this technique, but there are many situations in which it can be employed as research or monitoring esophagitis (such as humans Barrett's esophagus), erosive or polypoid gastric lesions and duodenal injuries. This work we conducted in ten adult animals who underwent endoscopy (EGD) followed by chromoendoscopy (CRE) and collecting biopsy of the esophagus, stomach (fundus, body and pyloric antrum) and duodenum when available. Biopsies were sent for histopathology for the presence or absence identification of damage on the collected material. The aim of this study was to demonstrate the technique of chromoendoscopy in dogs, evaluate its effectiveness on the identification and delineation of lesions in the upper digestive tract of these animals and correlate endoscopic findings before and after application of the technique to histopathologic results. The correlation between EGD and CRE by histopathology (gold standard) was evaluated using the Kappa test. The results showed significant agreement in CRE esophagus with accuracy of 83.33%. Moderate agreement in conventional endoscopy (CE) of the esophagus and CRE fundus, body and pyloric antrum with an accuracy of 83.33%, 70%, 70% e 70% respectively. Reasonable agreement in CRE stomach with an accuracy of 70%. Concordance bad in antrum EGD and duodenum EGD and CRE with an accuracy of 50%, 40% and 40% respectively. There was no correlation between the tests in the EC background, body and stomach with an accuracy of 40%, 40% and 43.33% respectively. The CRE has a moderate degree of difficulty in its application and is effective in directing esophagus and stomach the harvest biopsies.

Keywords: chromoendoscopy, dogs, lugol, indigo carmine, methylene blue.

APLICACIÓN Y CONTRIBUCIÓN DE LA CROMOENDOSCOPIA CON LUGOL, ÍNDIGO CARMÍN Y AZUL DE METILENO EN EL TRACTO DIGESTIVO SUPERIOR DE LOS PERROS

RESUMEN

Cromoendoscopia se define como la aplicación tópica de colorante acuoso a la mucosa del tracto gastrointestinal. Estos colorantes tienen la función de mostrar cambios tempranos o discretos que pasan desapercibidos para el examen convencional, lo que permite la colección de cambios en el tejido o seguimiento de las enfermedades pre existentes. En medicina veterinaria, no existían estudios que han utilizado esta técnica, pero hay muchas situaciones en las que puede ser empleado como la investigación o monitoreo: esofagitis (tales como esófago de Barrett en los seres humanos), lesiones erosivas gástricas o polipoide y lesiones duodenales. Este trabajo se realizó en diez animales adultos, endoscopia (EGD) seguido por cromoendoscopia (CRE) y la recolección de biopsia del esófago, estómago (fondo, el cuerpo y antro pilórico) y el duodeno cuando esté disponible. Las biopsias fueron enviadas para histopatología e identificación de la presencia o ausencia de daños en el material recogido. El objetivo de este estudio fue demostrar la técnica de la cromoendoscopia en perros, evaluar su eficacia en la identificación y la delimitación de las lesiones en el tracto digestivo superior de estos animales y correlacionar los hallazgos endoscópicos antes y después de la aplicación de la técnica a los resultados histopatológicos. La correlación entre la EGD y la CRE por histopatología (patrón oro) se evaluó mediante la prueba de Kappa. Los resultados mostraron un acuerdo significativo en la CRE esófago con una precisión de 83,33%. Acuerdo Moderado en la endoscopia convencional EGD del esófago con una precisión de 83,33% y CRE del fondus, el cuerpo y el antro pilórico con una precisión de 70%. Acuerdo razonable en CRE estómago con una precisión de 70%. Concordancia mal en EGD de antro y EGD y CRE de duodeno con una precisión de 50%, 40% y 40% respectivamente. No hubo correlación entre los ensayos en el EGD de fondus, el cuerpo y el estómago con una precisión de 40%, 40% y 43,33%, respectivamente. La CRE tiene un grado de dificultad moderado en su aplicación y es eficaz en la dirección de cosecha de las biopsias del esófago y el estómago.

Palabras clave: cromoendoscopia, perros, lugol, índigo carmín, azul de metileno.

APLICAÇÃO E CONTRIBUIÇÃO DA CROMOENDOSCOPIA COM LUGOL, ÍNDIGO CARMIM E AZUL DE METILENO NO TRATO DIGESTÓRIO SUPERIOR DE CÃES

INTRODUÇÃO

A endoscopia é um método diagnóstico especializado minimamente invasivo com possibilidades diagnósticas e terapêuticas (1). É uma excelente ferramenta para o diagnóstico de alterações no trato digestório superior de cães (2) e que a cada dia ganha maior destaque na Medicina Veterinária.

A endoscopia digestiva alta (EDA) é freqüentemente utilizada, nos cães, para avaliar problemas clínicos como regurgitação, vômito crônico e corpos estranhos (2). Ela também pode ser utilizada para pesquisa de diversas outras enfermidades que expressam sinais gastrointestinais inespecíficos, mesmo quando a causa primária localiza-se no trato gastrointestinal sendo o vômito o principal sinal. (3, 4, 5 e 6).

Lesões discretas, ou mesmo imperceptíveis, que ocorrem no trato gastrointestinal, provocadas por exemplo, pela esofagite de refluxo, podem ser identificadas precocemente na medicina humana através da cromoendoscopia (CRE).

A CRE é uma técnica que complementa o exame de EDA ou baixa (Colonoscopia) e consiste na aplicação tópica de corantes aquosos nas superfícies mucosas do trato gastrointestinal. Estes corantes colocam em evidência alterações precoces e/ou discretas que passariam despercebidas ao exame “convencional” (sem aplicação de corantes). Regiões interpretadas como positivas após aplicação dos corantes e não coletadas para análise podem esconder alguma doença ou nos levar a um diagnóstico impreciso (1).

Vários corantes podem ser utilizados e cada um tem uma ação específica sobre as células do trato gastrointestinal. A escolha do corante é realizada de acordo com a região que será avaliada associada à suspeita clínica do paciente. Em resumo, o corante escolhido é aquele que poderá nos dar mais informações sobre as células que serão examinadas (8).

Os corantes são classificados como corantes de absorção, de contraste e de reação. Após observação minuciosa do órgão que está sendo examinado, a solução corante escolhida é aplicada diretamente sobre a mucosa sob observação endoscópica através de cateter tipo spray. Desta forma, as informações obtidas variam de acordo com o corante, o órgão examinado e com a lesão procurada (1).

Neste contexto, a coloração da mucosa do trato gastrointestinal pode trazer esclarecimentos de três ordens: a) acentuar a visão do relevo da mucosa estudada, b) informar sobre a estrutura histológica ou histoquímica do epitélio de revestimento e de soluções de continuidade que o interromperam e c) fornecer indicações sobre as funções secretoras ou absorptivas do epitélio. Sendo assim, a CRE nos fornece informações

diagnósticas adicionais a respeito da morfologia e fisiopatologia da superfície epitelial do órgão examinado (1)

Ainda não há relatos de utilização da cromoendoscopia em medicina veterinária e somente um proprietário muito cuidadoso em contato próximo com seu animal, perceberia uma mudança discreta de apetite ou um simples desconforto gastrointestinal o que já seria suficiente para o início de uma investigação.

O objetivo deste trabalho foi demonstrar a aplicação da técnica de cromoendoscopia em cães, utilizando Lugol, Índigo Carmin e Azul de Metileno e avaliar sua eficácia quanto à identificação e delimitação de lesões no trato digestório superior destes animais correlacionando os achados endoscópicos pré e pós aplicação da técnica com os resultados histopatológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Dez animais adultos (6 fêmeas e 4 machos) realizaram EDA seguida de CRE e coleta de biópsia de esôfago, estômago e duodeno, quando acessível. Como método de triagem, realizou-se hemograma completo, tempo de coagulação e avaliação física de todos eles. A EDA, a CRE e a coleta de biópsias foram realizadas utilizando videogastrosκόpio PENTAX¹, processadora de imagem PENTAX², monitor SONY³, cateter tipo spray OLYMPUS⁴ e pinça de biópsia OLYMPUS⁵. As imagens e vídeos foram capturados do monitor diretamente para computador pessoal através de placa de captura de vídeo EASYCAP.

Os animais foram submetidos a jejum sólido de 12 horas e hídrico de 2 horas. O protocolo anestésico utilizado foi: morfina 0,3 mg/ Kg por via IM associada, no caso de animais muito agitados, a acepromazina 0,02 - 0,05 mg/ Kg por via IM como pré anestésicos. Acesso venoso periférico seguido de fluidoterapia de manutenção 10ml/ kg/ h com Solução de Ringer Simples; Meloxicam 0,2 mg/ Kg por via IV como anti-inflamatório. Indução anestésica realizada com Propofol 5 – 10 mg/ Kg por via IV seguida de intubação orotraqueal e manutenção do plano anestésico com Isoflurano acrescido de Oxigenioterapia a 100%. Antes do início da EDA, como medida de proteção contra danos ao equipamento endoscópico, colocou-se um protetor de boca na cavidade oral do animal já anestesiado.

O exame endoscópico do trato digestório superior seguiu o posicionamento e a rotina de inspeção segundo técnica descrita por Guilford (2005) e Tams (2011). Portanto, o animal foi posicionado em decúbito lateral esquerdo para facilitar o exame do piloro, pois o trás para topo do abdômen facilita o escoamento de líquido do piloro para o fundo gástrico, retira o peso do corpo e antro de cima do piloro facilitando assim, a passagem para o duodeno.

¹ Modelo EG2540 – Tubo de inserção 8,4mm; canal de biópsia 2,4mm e comprimento 1.05m.

² Modelo EPM3500

³ Modelo NO.LMD-1410 LCD Monitor

⁴ Modelo PW-6P-1

⁵ Modelo FB 231K e FB 241K

Neste estudo, para a escolha dos corantes, não foi levado em consideração a suspeita clínica do animal, quando esta existia, já que o objetivo principal do trabalho era demonstrar a aplicação da técnica de CRE e a eficácia dos corantes previamente escolhidos. Sendo assim, os corantes escolhidos e instilados na mucosa do trato gastrointestinal dos animais através de cateter tipo spray (Figura 1) foram: Lugol à concentração de 2%, Índigo Carmim a 0,1% e Azul de Metileno a 0,5%.

No Quadro 1 estão destacados, em vermelho, os corantes utilizados neste trabalho.

QUADRO 1 – Corantes utilizados em cromoendoscopia

	Corantes	Estruturas coradas	Coloração positiva
Absorção	Lugol	Células com conteúdo glicogênico	Marrom-escuro
	Azul de metileno	Células intestinais ou metaplasia intestinal	Azul
	Azul de toluidina	Núcleo de células colunares, gástricas e intestinais	Azul
	Violeta de genciana	Metaplasia intestinal e neoplasia	Violeta
Contraste	Índigo-carmim	Fovéolas, criptas e pregas	Azul-violeta
Reação	Vermelho congou	Células gástricas produtoras de ácido	Vermelho para azul escuro ou preto
	Vermelho fenol	Células infectadas por H pylori	Amarelo para vermelho

Fonte: adaptado de Fagundes, 2005



FIGURA 1 – Cateter tipo Spray, Sorbi e Gostout, 2000.

O Lugol foi o corante de escolha para aplicação na mucosa esofágica, devido a sua interação com o conteúdo glicogênico das células do epitélio estratificado não queratinizado presentes neste órgão (8). Uma particularidade histológica esofágica nos cães é que o epitélio estratificado pavimentoso é queratinizado e possui aberturas, com cerca de 1mm, dos canais das glândulas esofágicas (7).

Após instilação de água na luz esofágica para retirada de muco e secreções, sem a necessidade do uso de mucolíticos, instilou-se de 10 a 50 ml (média de 20 ml) da solução de Lugol a 2% através de cateter spray. A instilação do corante iniciou próximo a junção esofagogástrica com progressão retrógrada até o esôfago proximal. Dois minutos após sua aplicação, a mucosa foi lavada com água para retirada do excesso e então avaliada para identificação de áreas iodo-claras ou iodo-negativas que foram biopsiadas (8, 11).

O Índigo Carmim, corante de escolha para aplicação na mucosa gástrica, não penetra no meio intra-celular e permite destacar os contornos e melhor salientar a topografia da mucosa. Por não ser absorvido e ser rapidamente eliminado é praticamente inócuo (8). Utilizando a forma direta de aplicação do corante, sem a necessidade prévia do uso de mucolíticos, instilou-se 20 a 30 ml do corante a 0,2% em toda mucosa gástrica. Através de cateter spray, iniciou-se a instilação na região do antro-piloro com progressão retrógrada para o corpo e finalmente na região fúndica. As áreas destacadas em azul-violeta foram biopsiadas (1, 8).

Por último, o Azul de Metileno, corante utilizado na mucosa duodenal quando acessível ao exame endoscópico, é absorvido e acumulado no citoplasma das células da mucosa do intestino delgado e do cólon. Utilizado também, para realçar o epitélio de Barrett (metaplasia intestinal especializada) uma vez que não é absorvido pelas células escamosas do esôfago nem pela mucosa gástrica (8).

Após prévia instilação de água para retirada do excesso de muco, instilou-se 20 ml do corante na concentração de 0,5% através de cateter spray. A instilação iniciou-se na porção duodenal distal com progressão retrógrada até a primeira porção duodenal. Em seguida realizou-se lavagem da mucosa com água (média de 50ml) até o padrão da coloração ficar estável. Finalmente, a mucosa foi avaliada para identificação de áreas coradas em azul, sendo que as áreas não coradas foram alvo das biópsias (1, 8).

Foram colhidas duas amostras de biópsia de cada uma das seguintes regiões: porção distal do esôfago; antro, corpo, fundo gástrico e duodeno, quando acessível (Tabela 1). Animais que não possuíam lesões visíveis ao exame convencional e nem após aplicação da técnica de CRE tiveram biópsias coletadas aleatoriamente das mesmas regiões citadas acima. Animais que possuíam lesões visíveis ao exame convencional ou à cromoendoscopia tiveram estas lesões coletadas seguindo o critério das regiões citadas anteriormente.

TABELA 1 – Número de amostras colhidas de cada animal de acordo com o órgão avaliado

Animal	Esôfago		Estômago		Duodeno*	Total
	----	Fundo	Corpo	Antro piloro	----	----
1	2	2	2	2	0	8
2	2	2	2	2	0	8
3	2	2	2	2	2	10
4	2	2	2	2	2	10
5	2	2	2	2	0	8
6	2	2	2	2	2	10
7	2	2	2	2	0	8
8	2	2	2	2	2	10
9	2	2	2	2	2	10
10	2	2	2	2	0	8
Total	20	20	20	20	10	90

- A avaliação duodenal e consequente coleta de biópsia não foram realizadas em 5 animais devido à impossibilidade de transposição do piloro.

As amostras foram colocadas sobre um retângulo de papel filtro e depois em recipiente contendo solução de formalina neutra tamponada a 10%. O frasco foi identificado com o nome do animal, data e região coletada (14). As amostras permaneceram na formalina entre 24 e 48 horas no máximo, para fixação e em seguida foram encaminhadas ao Serviço de Patologia onde realizou-se procedimento padrão para inclusão das amostras em parafina. Após este procedimento os cortes realizados foram de 4 a 5 micrômetros, as lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina e examinadas sob microscopia de luz por um patologista veterinário. A correlação entre amostras colhidas e avaliadas é apresentada na Tabela 2.

TABELA 2 – Correlação entre amostras colhidas de cada órgão e amostras avaliadas pela histopatologia.

Órgão/ região	Colhidas		Histopatologia	
	n	n	n	%
Esôfago	20	12 ⁽²⁾	12	60
Estômago	-	-	-	-
Fundo	20	20	20	100
Corpo	20	20	20	100
Antro piloro	20	20	20	100
Duodeno	10 ⁽¹⁾	10 ⁽¹⁾	10	100
Total	90	82	82	82,22

⁽¹⁾ – Avaliação e coleta de biópsia duodenal realizada em apenas 5 animais.

⁽²⁾ – Ausência de material nas amostras coletada de 4 animais.

Nas análises estatísticas realizadas, a endoscopia convencional (E.C.) e a cromendoscopia (CRE) foram comparadas ao exame histopatológico definido como padrão ouro de diagnóstico.

A concordância, a reprodutibilidade e o grau de significância entre os exames foram avaliados através do teste de Kappa ($p < 0,05$). O valor de Kappa varia de 0 a 1 onde quanto mais próximo o resultado for da unidade maior a concordância entre os testes. Para interpretação da concordância e da reprodutibilidade utilizou-se os valores indicados por Landis e Koch (1977) e Rosner (2006).

Utilizou-se também o teste de Qui quadrado (X^2) com $p < 0,05$ para estimar a associação entre os sinais endoscópicos e os resultados histopatológicos. A acurácia dos testes demonstra o quanto o teste se aproximou do diagnóstico real, variando de 0 a 100%.

RESULTADOS

ESÔFAGO

Para a E.C. o teste de Kappa apresentou – se significativo ($p=0,0142$), com concordância moderada e boa reprodutibilidade. Na CRE o teste de Kappa apresentou – se significativo ($p=0,0072$), com concordância importante e boa reprodutibilidade.

Tanto para a E.C. quanto para a CRE , o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,3458$ e $0,4076$ respectivamente. Sendo assim, as proporções observadas nas duas técnicas concordam com as proporções esperadas pelo exame histopatológico.

A acurácia dos dois testes foi elevada (83,33%) o que demonstra a alta capacidade dos testes em acertar o diagnóstico com a utilização do Lugol nos animais avaliados.

A CRE apresentou maior sensibilidade enquanto a E.C. demonstrou-se mais específica. O valor preditivo negativo (VPN) das duas técnicas foi elevado, mas foi maior na CRE. Este resultado indica a elevada probabilidade da E.C. e da CRE em reconhecer os indivíduos com exames negativos e que realmente não possuem lesão.

FUNDO

Para a E.C. o teste de Kappa apresentou – se não significativo ($p=0,2280$), não havendo concordância entre os testes e fraca reprodutibilidade. Para a CRE o teste de Kappa apresentou – se significativo ($p=0,0084$), com concordância moderada e boa reprodutibilidade.

Tanto para a E.C. quanto para a CRE , o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,2059$ e $0,0565$ respectivamente. Sendo assim, as proporções observadas nas duas técnicas concordam com as proporções esperadas pelo exame histopatológico.

A acurácia da CRE foi elevada em comparação à E.C. demonstrando a alta capacidade do exame em acertar o diagnóstico com a utilização do Índigo Carmim nos animais avaliados. A especificidade elevada indica a capacidade do exame em reconhecer os animais saudáveis e o VPP alto revela a capacidade de identificar indivíduos com testes positivos que realmente possuem lesão. Nesta região gástrica a CRE foi superior a E.C. em todas as variáveis analisadas.

CORPO

Para a E.C. o teste de Kappa apresentou – se não significativo ($p=0,3240$), não havendo concordância entre os testes e fraca reprodutibilidade. O teste Kappa para a CRE apresentou – se significativo ($p=0,0339$), com concordância moderada e reprodutibilidade fraca.

Na E.C. o teste X^2 apresentou resultado significativo com $p = 0,0239$ demonstrando que as proporções observadas na E.C. não concordam com as proporções esperadas no exame histopatológico.

Já na CRE o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,5250$ demonstrando que as proporções observadas na CRE concordam com as proporções esperadas no exame histopatológico.

A acurácia da CRE foi elevada em comparação à E.C. demonstrando a capacidade do exame em acertar o diagnóstico com a utilização do Índigo Carmim nos animais avaliados. A especificidade elevada nas duas técnicas indica a capacidade dos exames em reconhecerem os animais saudáveis. O VPP alto da CRE revela a capacidade do exame em identificar indivíduos com testes positivos que realmente possuam lesão. Nesta região gástrica a CRE também foi superior a E.C. em todas as variáveis analisadas.

ANTRO PILORO

Para a E.C. o teste de Kappa apresentou – se não significativo ($p=0,5000$), com uma concordância ruim entre os testes e fraca reprodutibilidade. O teste Kappa para a CRE apresentou – se significativo ($p=0,0127$), com concordância moderada e reprodutibilidade fraca.

Tanto para a E.C. quanto para a CRE, o teste X^2 apresentou resultado não significativo com $p = 0,0974$ para as duas técnicas. Sendo assim, as proporções observadas nas duas técnicas concordam com as proporções esperadas pelo exame histopatológico.

A acurácia da CRE foi elevada em comparação à E.C. demonstrando a capacidade do exame em acertar o diagnóstico com a utilização do Índigo Carmim nos animais avaliados. A sensibilidade, que é a capacidade do teste em reconhecer os animais com lesão, foi elevada nas duas técnicas sendo maior na CRE. O VPN alto da CRE revela a capacidade do exame em identificar indivíduos com testes negativos que realmente não possuam lesão. Os resultados mostraram também uma porcentagem elevada de falsos positivos para E.C. que podem ter relação com o corante escolhido, com as dificuldades encontradas durante o exame ou à própria técnica utilizada. Nesta região gástrica, a CRE foi mais uma vez superior à E.C. em todas as variáveis analisadas

DUODENO

Todas as variáveis avaliadas neste órgão obtiveram o mesmo resultado. Tanto para técnica de E.C. quanto para a CRE o teste de Kappa apresentou – se não significativo

($p=0,2146$), com uma com uma concordância ruim e fraca reprodutibilidade. Já o teste X², apresentou resultado significativo com $p = 0,0253$ demonstrando que as proporções observadas nas duas técnicas não concordam com as proporções esperadas no exame histopatológico.

A acurácia das técnicas foi baixa (40%) demonstrando a baixa capacidade dos testes em acertar o diagnóstico com a utilização do Azul de Metileno nos animais avaliados. Os testes foram muito específicos, mas pouco sensíveis. Os resultados mostraram também uma porcentagem elevada de falsos negativos e de VPP (100%) que concorda com os falsos positivos (0%). O VPP indica a elevada probabilidade da E.C. e da CRE em reconhecer os indivíduos com exames positivos e eles realmente possuem lesão.

Os dados estatísticos referentes às regiões avaliadas podem ser observados na Tabela 3.

TABELA 3 – Acurácia, Kappa e Qui quadrado da E.C. e da CRE em relação ao exame histopatológico para cada região avaliada

TESTES	ESÔFAGO		FUNDO		CORPO		ANTRO		DUODENO	
	E.C.	CRE	E.C.	CRE	E.C.	CRE	E.C.	CRE	E.C.	CRE
Sensibilidade	50%	50%	33,33%	50%	16,67%	67,67%	80%	100%	25%	25%
Especificidade	100%	100%	50%	100%	75%	75%	20%	40%	100%	100%
Falso positivo	0%	0%	50%	0%	25%	25%	80%	60%	0%	0%
Falso negativo	50%	50%	66,67%	50%	83,33%	33,33%	20%	0%	75%	75%
VPP	100%	100%	50%	100%	50%	80%	50%	62,50%	100%	100%
VPN	80%	80%	33,33%	57,14%	37,50%	60%	50%	10%	25%	25%
Acurácia	83,33%	83,33%	40%	70%	40%	70%	50%	70%	40%	40%
Kappa	0,5714	0,5714	-0,1538	0,4444	-0,0714	0,4	0	0,4	0,1176	0,1176
p (Kappa)	0,0142	0,0142	0,2280	0,0084	0,3240	0,0339	0,5	0,0127	0,2146	0,2146
X²	0,89	0,89	1,6	3,64	6,67	0,4	3,96	3,96	7,2	7,2
p (X²)	0,6374	0,6374	0,4328	0,1120	0,0239	0,7506	0,0974	0,0974	0,0253	0,0253

DISCUSSÃO

A técnica de cromoscopia (CRE) demonstrou-se de fácil aplicação como relatado por Fagundes (2005), mas necessita de habilidade, ao menos mediana, no manejo do equipamento endoscópico para que seja realizada com eficiência.

Ao final do primeiro procedimento realizado neste trabalho, observou-se episódios de tosse após a extubação e recuperação anestésica do animal. Estes episódios cessaram após uma hora do término do procedimento sendo assim foram associados ao refluxo

esofágico de Lugol e irritação da faringe e laringe do mesmo. Nos procedimentos seguintes o posicionamento inicial do animal para o exame foi modificado e com sucesso evitou-se o refluxo esofágico do Lugol e conseqüentemente novos episódios de tosse. Sendo assim, os animais realizaram os exames posicionados em decúbito lateral esquerdo com elevação do tórax há aproximadamente 30° em relação à mesa.

Inicialmente, a avaliação do trato gastrointestinal superior iniciava-se com a realização de exame endoscópico convencional e avaliação esofágica, gástrica e duodenal, quando acessível. Na sequencia, realizava-se a cromoendoscopia retrógrada com a avaliação e biópsia duodenal, quando acessível, gástrica e por fim esofágica.

Durante o primeiro procedimento, no momento da aplicação da CRE no estômago, observou-se o refluxo enterogástrico moderado de Azul de Metileno que interferia na interpretação das lesões gástricas.

Diante deste fato, a sequencia da CRE foi alterada para: primeiramente CRE, avaliação e biópsia gástrica, depois duodenal, quando acessível e finalmente esofágica. Com esta ação evitou-se o refluxo enterogástrico de Azul de Metileno antes da avaliação gástrica o qual que prejudicava a avaliação da mucosa deste órgão.

Utilizando os corantes escolhidos a CRE demonstrou-se vantajosa no direcionamento e aquisição de amostras de biópsia do trato digestório superior de cães quando comparada à E.C. Porém, chamamos a atenção para os dados a seguir.

A especificidade e a porcentagem de falso positivo obtiveram os mesmo valores para as duas técnicas na região de corpo gástrico.

A especificidade, a porcentagem de falso positivo e o VPP da E.C. no esôfago, foram maiores do que na CRE. A acurácia foi a mesma para as duas técnicas, mas a CRE apresentou um maior valor de concordância entre os métodos diagnósticos para este órgão.

Muitas lesões discretas realmente foram destacadas e lesões perceptíveis à endoscopia convencional foram melhor delimitadas. As desvantagens no uso da CRE podem estar relacionadas à escolha inadequada do corante frente ao histórico do animal, à dificuldade de aquisição dos corantes e no custo elevado do cateter tipo spray adequado para realização da técnica.

No esôfago, seis amostras de biópsia (3 animais) não continham material suficiente para análise histopatológica e duas amostras coletadas (1 animal) não continham material algum. Este resultado pode ser atribuído ao número limitado de animais do estudo e à dificuldade de coleta das amostras, já que o esôfago dos cães possui epitélio queratinizado (mais resistente) e fica posicionado longitudinalmente em relação ao endoscópio durante o todo exame. Os resultados falsos positivos e negativos das duas técnicas e a baixa sensibilidade da E.C. neste órgão podem ser decorrentes das dificuldades técnicas encontradas durante o exame ou de lesões precoces perceptíveis apenas quando utiliza-se a CRE (sensibilidade 100% no esôfago). Regiões que na E.C. não apresentavam alterações ficaram fracamente coradas à CRE (2 animais) e foram

classificadas como positivas. Estas biópsias apresentaram esofagite mononuclear ao exame histopatológico.

Avaliando as 3 regiões gástricas individualmente observou-se em todas elas, elevada acurácia do método de CRE. A eficácia da CRE pode ser vista pela sensibilidade e VPP alto para as 3 regiões (valor mais baixo para antro piloro). A sensibilidade é responsável por identificar indivíduos com lesão enquanto o VPP é a capacidade do teste identificar a lesão e estas realmente serem compatíveis com o exame histopatológico. Mais uma vez, a técnica, a escolha do corante ou as dificuldades encontradas durante o exame, fizeram com que os resultados falso positivo e negativo fossem sempre maiores na E.C., fato apenas não observado na região de corpo gástrico onde os resultados foram iguais.

Algumas regiões destacadas pelo Índigo Carmim não apresentaram lesão à histopatologia, falso positivo de 60% na região de antro piloro. Outras regiões em que o padrão da coloração foi homogêneo apresentaram lesões, falso negativo elevado na região fúndica e moderado no corpo gástrico.

Avaliando o estômago como um todo, sem subdividi-lo, a acurácia e a sensibilidade da CRE mantém-se alta. Os falso positivos aumentaram em relação à região de fundo e corpo, mas diminuíram em relação ao antro piloro. Já os falsos negativos diminuíram em relação a região fúndica e corpo, mas aumentaram em relação ao antro piloro. Sendo assim, a CRE demonstrou-se mais eficaz na avaliação individualizada das regiões gástrica do que no estômago como um todo.

No duodeno os testes obtiveram os mesmos resultados que podem ser atribuídos ao baixo número de animais do estudo e ao baixo sucesso de transposição do piloro em metade dos animais examinados. A acurácia do teste foi baixa e conforme demonstrado nos resultados, a CRE utilizando Azul de Metileno não apresentou vantagem diagnóstica quando comparada à E.C. nos animais avaliados. As lesões histopatológicas (processos inflamatórios) encontradas no duodeno foram coradas normalmente com o Azul de Metileno, já que este corante é absorvido pelo citoplasma das células intestinais. Os resultados nos mostraram também 75% de falsos negativos que podem estar relacionados às dificuldades encontradas durante o exame, ao reconhecimento de áreas coradas fracamente ou à lavagem insuficiente da mucosa duodenal para estabilização adequada do corante instilado.

CONCLUSÕES

De acordo com os corantes escolhidos, a técnica aplicada e com os animais avaliados concluímos que a CRE é de fácil aplicação, mas é necessária habilidade, no mínimo mediana do endoscopista no manejo do equipamento endoscópico para que a técnica seja aplicada de forma eficiente.

Na CRE de esôfago, os animais devem ser posicionados com o tórax elevado aproximadamente a 30° em relação à mesa de exame evitando assim o refluxo de Lugol para faringe e laringe dos mesmos.

A CRE apresentou vantagem no direcionamento e aquisição de amostras de biópsia no trato digestório superior dos cães sendo que no esôfago, a acurácia das técnicas obteve o mesmo resultado. Quando realizada no estômago, a CRE apresenta melhores resultados se as regiões gástricas forem avaliadas isoladamente.

Os corantes apresentaram dificuldade razoável para aquisição e o cateter spray é um item relativamente caro, mas necessário para adequada aplicação da técnica.

Os sinais endoscópicos positivos e negativos na E.C. e na CRE e sua correlação com os exames histopatológicos estão representados pelo valor do teste de Kappa na Tabela 3

Na tentativa de contornar os problemas encontrados neste estudo e confrontar os resultados obtidos sugere-se, portanto, aumentar o número de animais avaliados aumentando assim a possibilidade de encontrar lesões diferentes das encontradas neste estudo. Utilizar corantes diferentes nos mesmos órgãos avaliados neste estudo verificando a ação dos mesmos no trato digestório dos cães. Aprimorar a técnica de CRE para o uso em animais de companhia. Padronizar o volume adequado de cada corante instilado, o tempo de contato com a mucosa para posterior avaliação, o volume necessário de água utilizada para lavagem da mucosa após a instilação do corante entre outros. Coletar um número maior de amostras ou utilizar equipamento endoscópico e pinça de biópsia maior do que as utilizadas neste estudo com o objetivo de diminuir as coletas com material insuficiente para avaliação histopatológica ou mesmo amostras sem material.

BIBLIOGRAFIA

1. Fagundes RB. Cromoendoscopia de esôfago e estômago. In Magalhães A.F. SOBED Endoscopia Digestiva Diagnóstica e Terapêutica. Rio de Janeiro: Revinter; 2005. p. 106-119.
2. Guilford WG. Upper Gastrointestinal Endoscopy. In McCarth TC. Veterinary Endoscopy for the Small Animal Practitioner. Beaverton: Elsevier; 2005. p. 279-321.
3. Fallin EA, Leib MS, Trevor P. Endoscopy case of the month. Med. Lenexa. 1996; 91: p. 41-50.
4. Lecoindre P, Chevallier M, Peyrol S, Boude M, Labigne A. Pathogenic role of gastric *Helicobacter* sp in domestic carnivores. Veterinary research [Internet]. 1997 [cited 2013 Jun 29];28(33):207-15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9208441>.
5. Araújo IC, Ferreira AR. Infecção por *Helicobacter* spp em gatos. Rev. Clín. Vet. 2002; 07.
6. Benevento S, Ferreira AR. Estudo Histopatológico das Gastropatias caninas e felinas. Rev. Bras. Med. Vet. 2002; 24(2): p. 81-84.
7. WASHABAU RJ, DAY MJ. Esophagus. In Washabau RJ, Day MJ, editors. Canine & Feline Gastroenterology. 1st ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2013. p. 996.

8. Ratilal PO, Pires EC, Deus JR, Novais LA. Artigo de Revisão / Review Article CROMOENDOSCOPIA: PORQUÊ COLORIR? GE - J. Port Gastroenterol. 2002;9:340–6.
9. Sorbi D, Gostout CJ. Polyp Identification and Marking : Chromoscopy , Tattooing , and Clipping. Techniques in Gastrointestinal Endoscopy. 2000;2:2–8.
10. Tams TR. Gastroscopy. In Tams TR. Small Animal Endoscopy. Missouri: Elsevier Mosby; 2011. p. 97-172.
11. Moreira EF, Oliveira LA de, Pinto PRA de, Albuquerque W, Carvalho SD, Coelho JCCGP. Projeto Diretrizes: Cromoscopia com lugol na detecção do câncer de esôfago [Internet]. São Paulo; 2008 p. 17. Available from: http://www.sobed.org.br/web/arquivos_antigos/pdf/diretrizes/Cromoscopia.pdf.
12. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics [Internet]. 1977 Mar [cited 2013 May 24];33(1):159–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/843571>
13. Rosner B. Fundamentals of biostatistics [Internet]. segunda ed. Molly Taylor, Daniel Selbert SW, editor. Boston, MA: Brooks/Cole; 2011 [cited 2013 Jul 9]. p. 888. Available from: http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=-CQtWiJJL0cC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Fundamentals+of+Biostatistics&ots=W1J2ti_vbw&sig=MA2VQGB0P_22q7z4upVEbRCYhQA
16. Valentine BA. Endoscopic Biopsy Handling And Histopatology. In McCarthy TC. Veterinary Endoscopy For The Small Animal Practioner. 3rd ed. St Lois: Elsevier Saunders; 2005. p. 31-47.

ANEXO 1



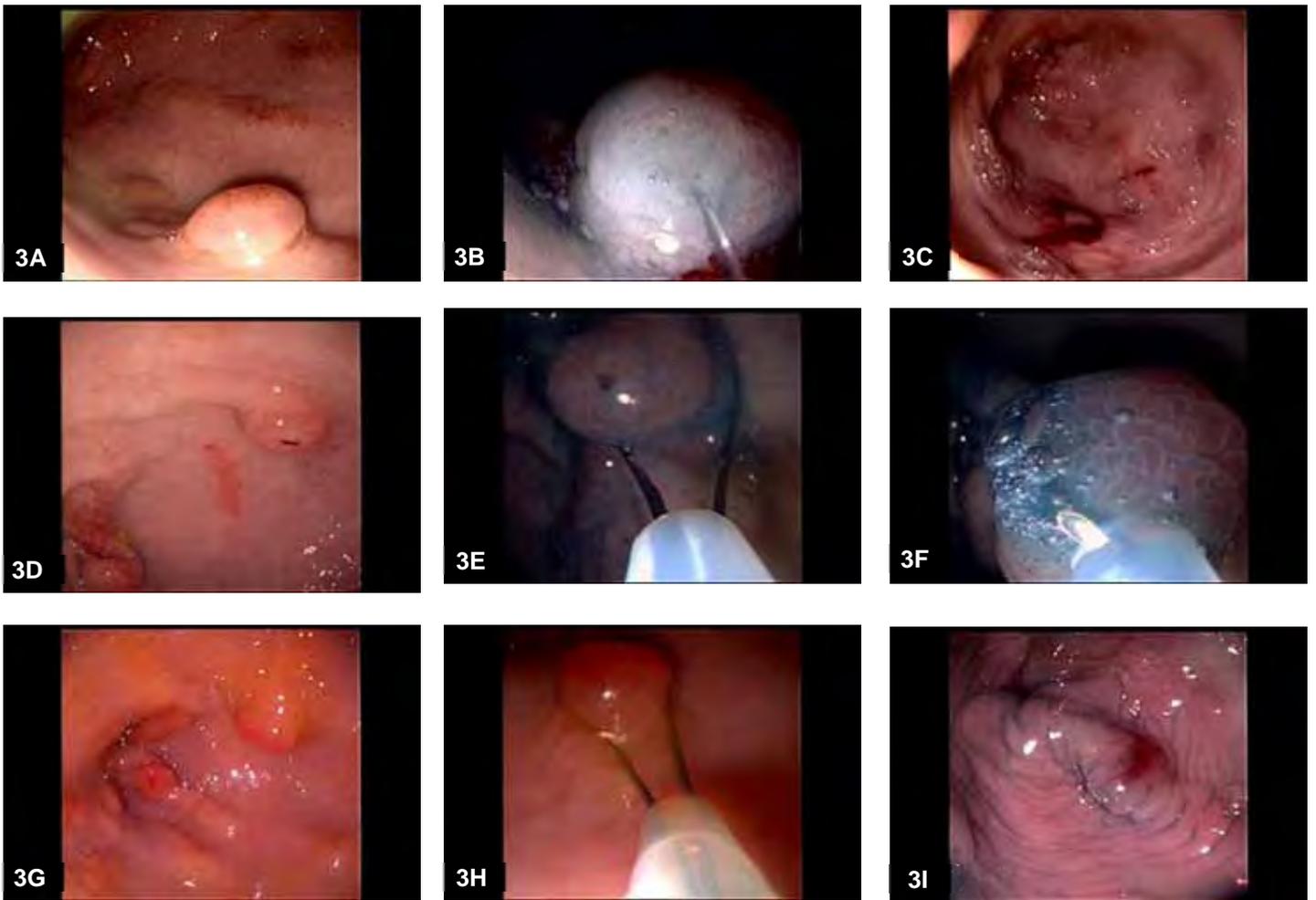
FIGURA 1 - Cateter tipo spray.



FIGURA 2 - Protetor de boca e sua aplicação.



FIGURA 3 - Identificação, coloração e polipectomia antral.



As Figuras 3A, D e G mostram a identificação dos pólipos. Pólipos destacados e bem delimitados com Índigo Carmim nas Figuras 3B, E e F. Retirada de pólipos utilizando alça de polipectomia nas Figuras 3 B, E, F e H. Região de antro Figura 3C e piloro 3 I após a retirada dos pólipos.



FIGURA 4 - Amostras de biópsia sobre papel filtro.
Amostras de biópsias coletadas da mesma região e colocadas sobre papel filtro, Valentine, 2005.

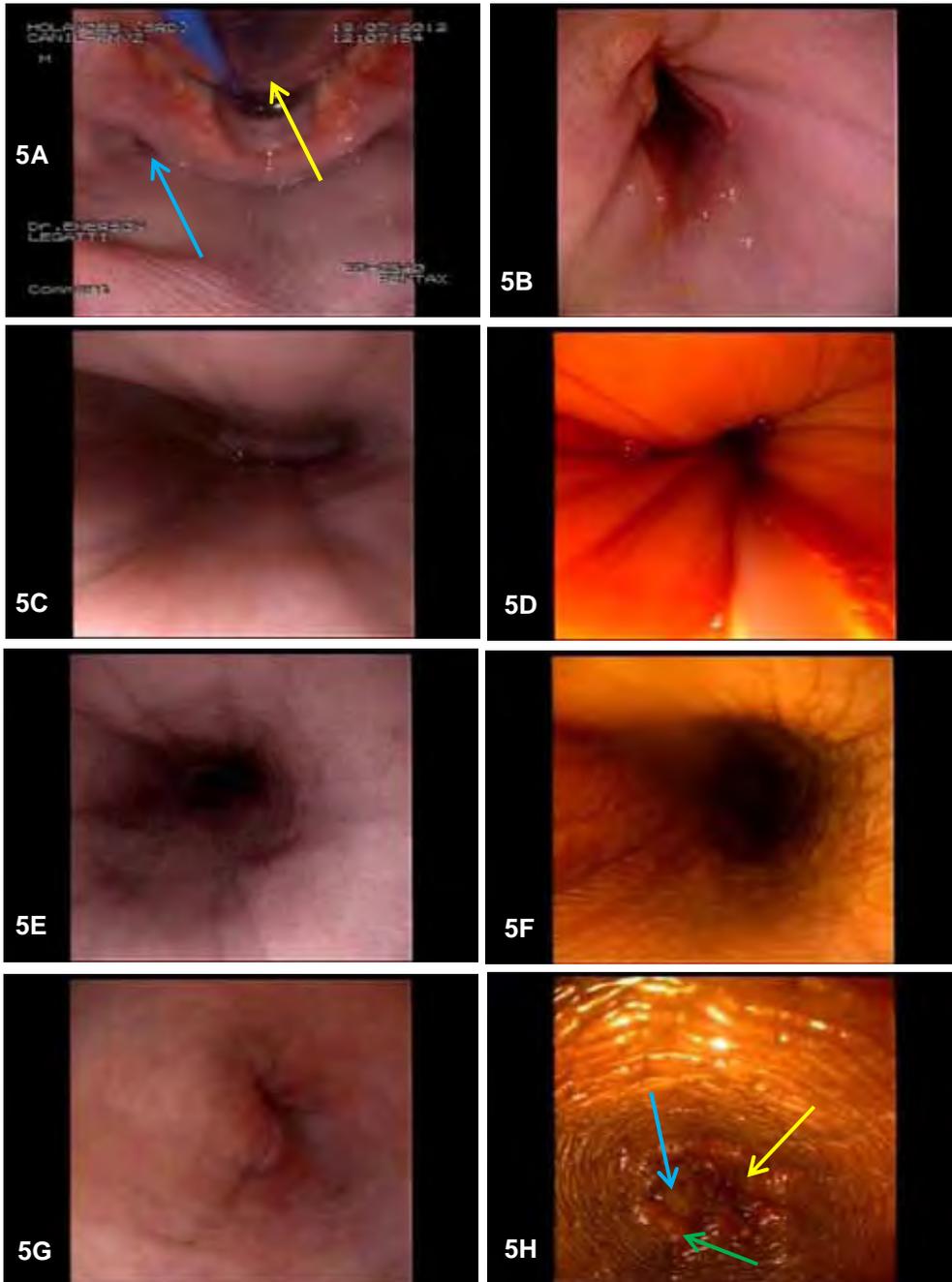


FIGURA 5 - Região de hipofaringe, esôfago cranial, médio e caudal mostrados antes e após a cromoendoscopia.

Figura 5A mostrando região de hipofaringe, aritenóides, tubo endotraqueal (seta amarela) e recesso piriforme (seta azul).

5B – esfíncter esofágico cranial.

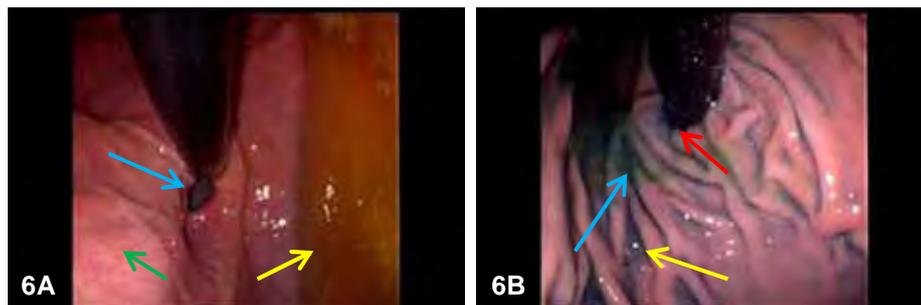
5C e 5D – porção esofágica cranial sem alterações antes e após a cromoendoscopia respectivamente.

5E e 5F – porção esofágica média sem alterações antes e após a cromoendoscopia respectivamente.

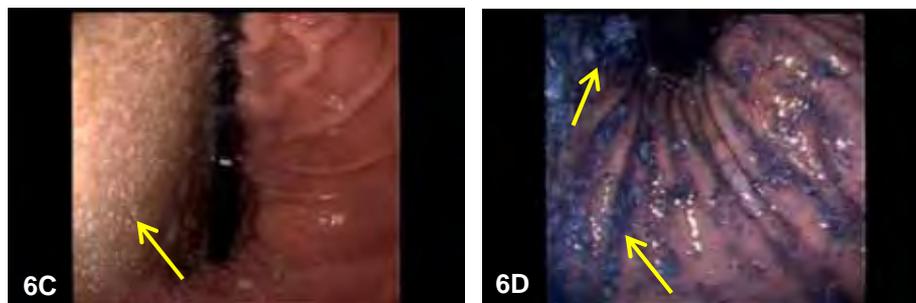
5G e 5H – porção esofágica caudal e cárdia sem alterações antes da cromoendoscopia respectivamente.

Após instilação de Lugol notamos a delimitação da linha Z (transição do epitélio esofágico para o gástrico) mais avermelhada (seta amarela), presença de muco corado (seta azul) e outra região avermelhada cranial ao cárdia (seta verde). As biópsias coletadas deste animal apresentaram material insuficiente para avaliação histopatológica. Notar formação de pregas circulares em região esofágica caudal provocadas pela ação adstringente do corante.

FIGURA 6 - Imagens do fundo gástrico à retrovisão antes e após a cromoendoscopia.



As Figuras 6A e B mostram imagens do fundo gástrico captadas à retrovisão endoscópica nos exames de endoscopia convencional e cromoendoscopia respectivamente. A Figura 6A apresenta lago mucoso biliar com volume moderado (seta amarela), incompetência de cárdia (seta azul) e mucosa com hiperemia discreta e difusa (seta verde). Na Figura 6B, após a cromoendoscopia com Índigo Carmim, notamos regiões entre as pregas gástricas impregnadas com o corante (seta amarela), muco corado em verde (seta azul) e ausência da incompetência do cárdia (seta vermelha). As biópsias coletadas deste animal revelaram gastrite crônica à histopatologia.

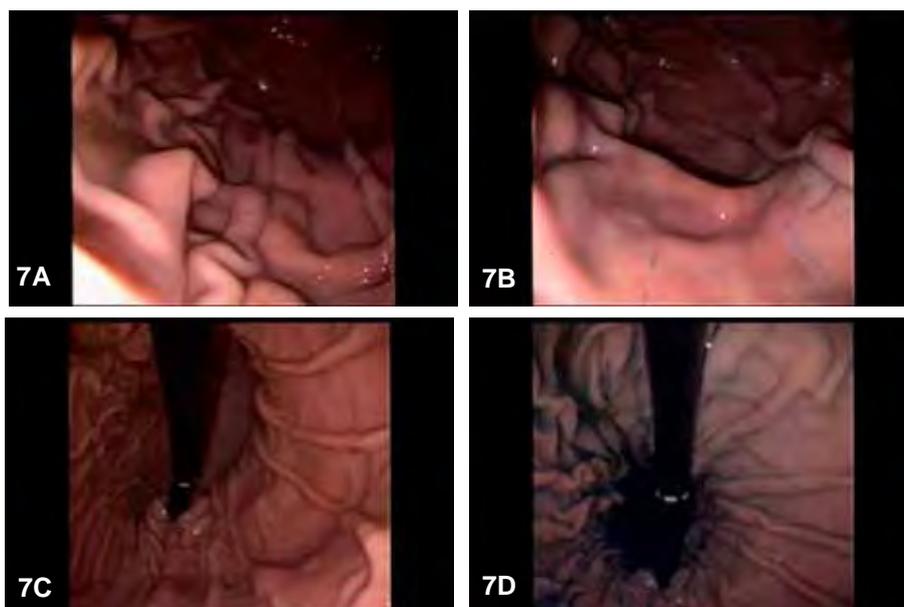


A Figura 6C apresenta lago mucoso com grande volume de alimento parcialmente digerido (seta amarela), e fundo gástrico aparentemente normal. Na Figura 6D mesmo depois da lavagem gástrica do animal, após a cromoendoscopia com Índigo Carmim, notamos a impregnação do corante em grande quantidade do conteúdo alimentar (setas amarelas) que prejudicou a avaliação adequada da mucosa gástrica deste animal. As biópsias coletadas deste animal revelaram diagnóstico de gastrite atrófica.

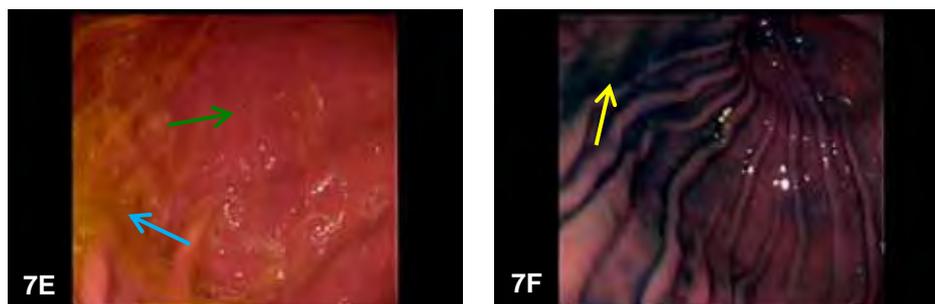


A Figura 6E mostra o cárdia à retrovisão (seta amarela), região de pequena curvatura (seta azul) e secreção espumosa amarelada (seta verde). Na Figura 6F impregnação do corante no conteúdo espumoso (seta amarela) e demarcação de padrão em mosaico da mucosa (seta vermelha). A Figura 6G mostra a coleta de biópsia do fundo gástrico. As biópsias coletadas deste animal não apresentaram alterações ao exame histopatológico.

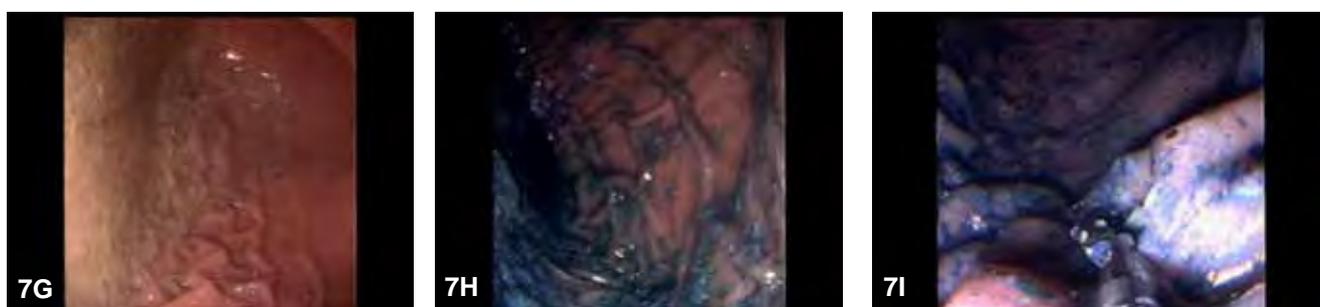
FIGURA 7 - Imagens do corpo gástrico parcialmente e totalmente insuflado.



A Figura 7A e C mostram o corpo gástrico parcialmente e totalmente insuflado respectivamente. As pregas gástricas possuem aparência normal. Na Figura 7B e D após a cromoendoscopia, não evidenciamos lesões, apenas acúmulo de corante entre as pregas gástricas. As biópsias coletadas deste animal não apresentaram alterações ao exame histopatológico.



Na Figura 7E, com o estômago dilatado notamos a presença de secreção amarelada espessa em moderada quantidade (seta azul) e hiperemia de mucosa (seta verde). Na Figura 7F vemos a impregnação do corante na secreção (seta amarela) e aparentemente ausência de lesões à cromoendoscopia. As biópsias coletadas deste animal apresentaram gastrite crônica com calcificação de mucosa e submucosa ao exame histopatológico. Este animal também apresentava pólipos antrais e gastrite crônica de fundo.

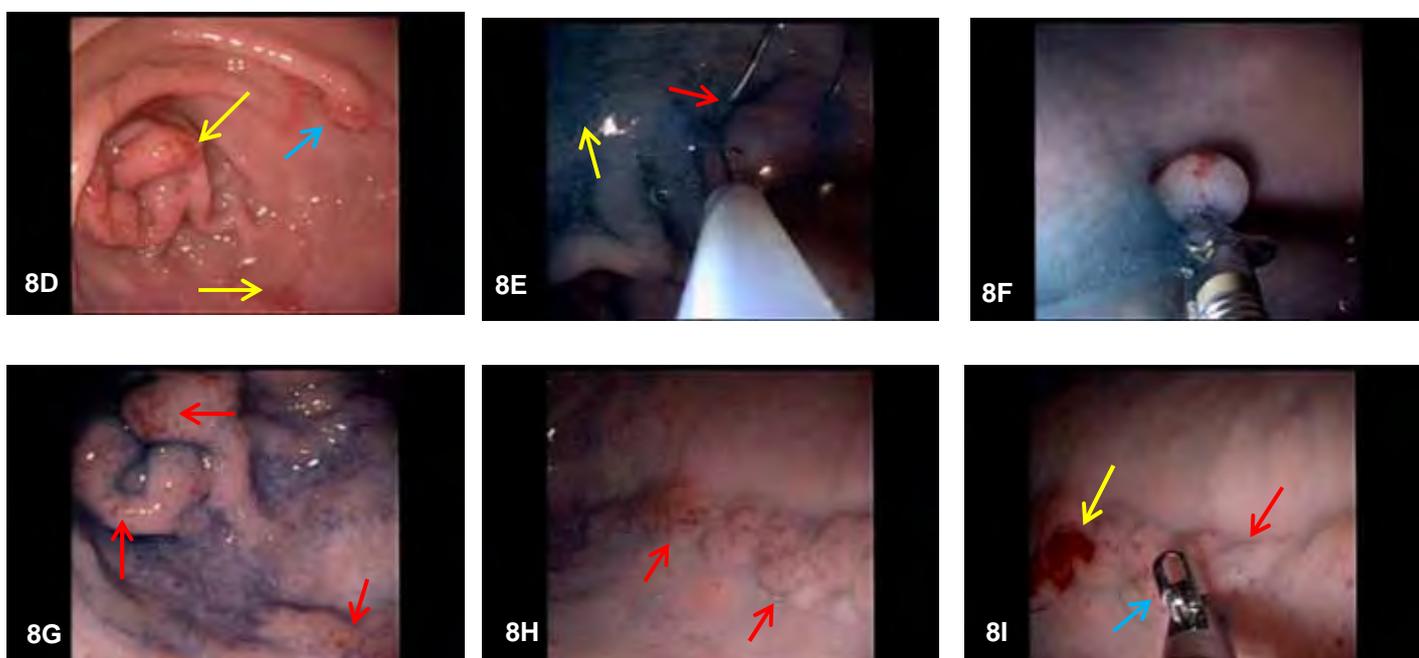


O animal da Figura 7G a 7I é o mesmo animal das Figuras 6. Apresenta lago mucoso com grande volume de alimento parcialmente digerido, e corpo gástrico aparentemente normal. Na Figura 7H e I notamos a impregnação do corante em grande quantidade do conteúdo alimentar que prejudicou a avaliação adequada da mucosa gástrica deste animal. As biópsias coletadas deste animal revelaram diagnóstico de gastrite atrófica.

FIGURA 8 - Antro piloro antes e após cromoendoscopia e polipectomia com alça.



A Figura 8A mostra região de antro com pequena quantidade de secreção amarelada, incisura angular (seta amarela) e mucosa com aspecto normal. Na Figura 8B, após a cromoendoscopia, podemos observar deposição do corante em várias regiões salientando o contorno do relevo da mucosa. A Figura 8C apresenta duas regiões circulares (seta amarela) bem delimitadas pelo corante e outras regiões em destaque ao redor. As biópsias coletadas destas regiões (setas amarelas) não apresentaram lesões ao exame histopatológico.



A Figura 8D mostra áreas eritematosas erosivas pouco difusas em antro e piloro (sugestivo de gastrite erosiva seta amarela) e pólipo antral (seta azul). A Figura 8E apresenta moderada quantidade de secreção corada com Índigo Carmim (seta amarela) e procedimento de polipectomia com alça (seta vermelha). A Figura 8F mostra a recuperação do pólipo após sua excisão. As Figuras 8G, H e I apresentam regiões erosivas e elevadas destacadas pela cromoendoscopia (setas vermelhas). A Figura 8I apresenta região de colheita de biópsia (seta amarela) e uma segunda biópsia sendo realizada (seta azul). As biópsias coletadas destas regiões (setas amarelas) não apresentaram lesões ao exame histopatológico.

FIGURA 9 - Duodeno e papila duodenal maior antes e após a cromoendoscopia.

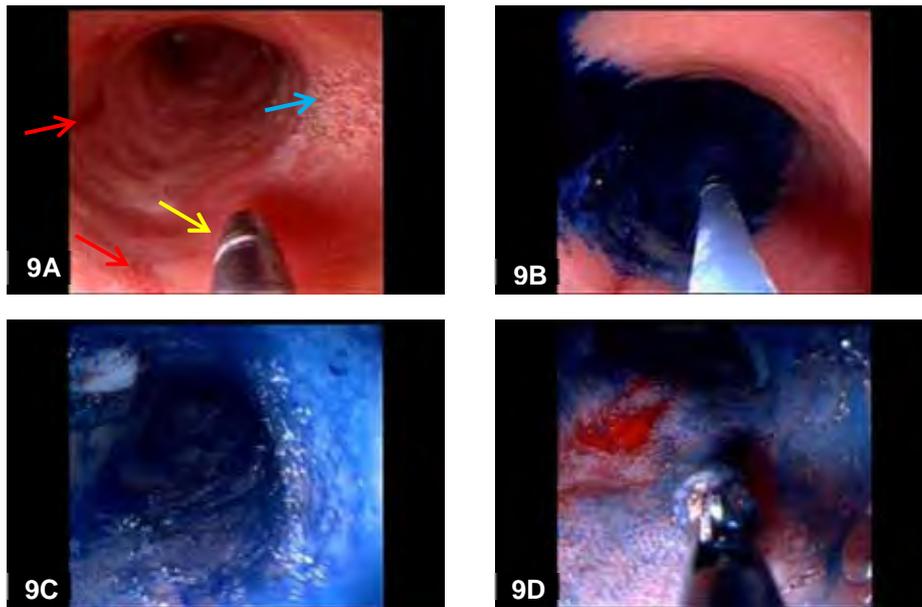
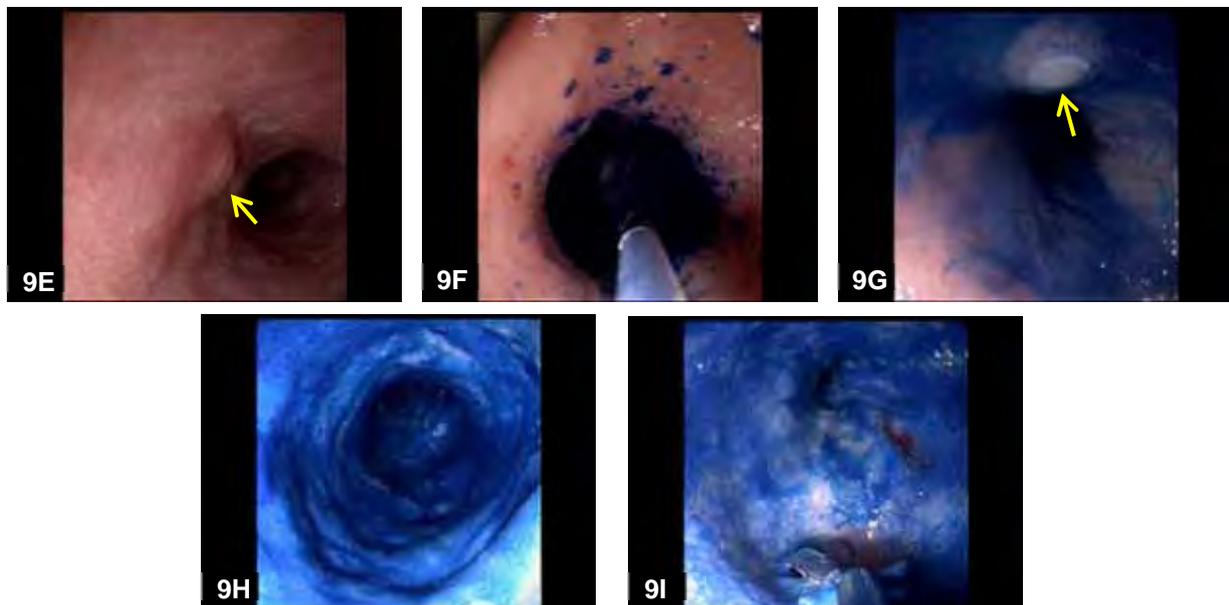


Figura 9A mostra o cateter spray na luz duodenal (seta amarela), pequena quantidade de secreção espumosa esbranquiçada (seta azul), e mucosa com regiões eritematosas provocadas por trauma do equipamento (setas vermelhas). Na Figura 9B início da cromoendoscopia retrógrada no duodeno utilizando azul de metileno. Na Figura 9C o duodeno foi totalmente corado e uma biópsia está sendo realizada na Figura 9D. As biópsias coletadas deste animal apresentaram diagnóstico de enterite crônica ao exame histopatológico.



A Figura 9E mostra a primeira porção duodenal e a papila duodenal maior (seta amarela). Na Figura 9F vemos a instilação de Azul de Metileno na luz duodenal. A Figura 9G destaca a papila duodenal maior (seta amarela) e outras áreas fracamente ou não coradas com Azul de Metileno. Uma segunda aplicação de Azul de Metileno foi realizada para garantir que não houve falha técnica. Nas Figuras 9H e I podemos ver o duodeno totalmente corado e uma biópsia sendo realizada respectivamente. As biópsias coletadas deste animal apresentaram diagnóstico de enterite crônica ao exame histopatológico.

ANEXO 2

Normas para publicação na revista *Veterinária e Zootecnia*

Diretrizes para Autores

Artigos Científicos

Devem ser estruturados de acordo com os seguintes itens:

1. Página de rosto, com:

Título do trabalho em português, em inglês e em espanhol, fonte Times New Roman, tamanho 12, com espaçamento simples, em negrito e centralizado, em letra maiúscula. Quando necessário, indicar a entidade financiadora da pesquisa, como primeira chamada de rodapé;

Em caso de envolvimento de seres humanos ou animais de experimentação, encaminhar o parecer da Comissão de Ética ou equivalente, assinalando, no trabalho, antes das referências, a data de aprovação.

2. Página com resumo, abstract e resumen

Tanto o resumo, como o abstract e o resumen devem ser seguidos do título do trabalho, no respectivo idioma, e conter no máximo 400 palavras cada um, com informações referentes à introdução, metodologia, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço simples, começando por RESUMO. O abstract, e o resumen devem

ser tradução fiel do resumo. Independente da língua em que o artigo for apresentado, deverá conter o resumo em português, inglês e espanhol. Devem conter, no máximo, cinco palavras-chave, keywords, e palabras clave que identifiquem o conteúdo do texto.

3. A estrutura do artigo deverá conter:

Introdução: Deve ser clara, objetiva e relacionada ao problema investigado e à literatura pertinente, bem como aos objetivos da pesquisa. A introdução estabelece os objetivos do trabalho.

Material e Métodos: Devem oferecer informações de reprodutibilidade da pesquisa, de forma clara e concisa, como variáveis, população, amostra, equipamentos e métodos utilizados, inclusive os estatísticos.

Resultados: Apresentação dos resultados obtidos, que devem ser descritos sem interpretações e comparações. Poderá ser sob a **forma de tabelas**, no máximo de cinco, ordenadas em algarismos arábicos e encabeçadas pelo título, de acordo com as normas de apresentação tabular da ABNT/WBR 6023/2000 da Associação Brasileira de Normas Técnicas, identificadas no texto como Tabela; sob a **forma de figuras**, nos casos de gráficos, fotografias, desenhos, mapas, etc., ordenadas em algarismos arábicos, até no máximo de seis, e citadas no texto como Figura.

Discussão: Deve ser entendida como a interpretação dos resultados, confrontando com a literatura pertinente, apresentada na introdução. Se julgar conveniente, os resultados e a discussão poderão ser apresentados conjuntamente.

Conclusões: É a síntese final, fundamentada nos resultados e na discussão.

Referências: Devem ser apresentadas de acordo com as normas Vancouver (<http://www.icmje.org/>). **Deverão** ser editorados em Microsoft Word for Windows, para edição de textos, Excel (qualquer versão) para gráficos, formato JPEG ou GIF (imagem) para fotografias, desenhos e mapas, formato A4 (21,0 x 29,7 cm), em espaço simples, mantendo margens de 2,5 cm, nas laterais, no topo e pé de cada página, fonte Times New Roman, tamanho 12 e numeração consecutiva das páginas em algarismos arábicos, a partir da folha de identificação. Deverão também apresentar numeração nas linhas, reiniciando a contagem a cada nova página. Ilustrações e legendas devem ser apresentadas no decorrer do texto. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis no formato PDF no endereço eletrônico da revista. Para as demais seções da revista são válidas as normas anteriores. Não devem exceder a 15 páginas. Abreviaturas não usuais devem ser empregadas após escritas por extenso na primeira utilização.

Artigos de Revisão Bibliográfica

Os artigos de revisão bibliográfica serão publicados nas línguas portuguesa, inglesa e espanhola, quando o autor apresentar contribuição científica, relevante na área específica do assunto abordado, a convite dos editores. Deverão conter: Título (português, inglês e espanhol), resumo com palavras-chave, abstract com keywords e resumen com palabras claves, introdução, desenvolvimento do assunto, conclusão e referências. Deverão conter no máximo 20 páginas e 60 referências.

Relato de Caso

Não devem ser estruturados, como os artigos. Devem apresentar o título em português, em inglês e espanhol, resumo com palavras-chave, abstract com keywords, resumen com palabras claves e referências. Devem conter no máximo cinco páginas, três tabelas ou figuras e 15 referências.

Comunicações Curtas

São relatos contendo dados inéditos e relevantes de estudos originais, como, por exemplo, resultados preliminares de uma pesquisa. Devem ser apresentadas com, no máximo, cinco páginas, uma tabela e 10 referências. A estrutura deve respeitar as normas para relatos de caso.

Referências e Citações

As referências devem ser numeradas consecutivamente e listadas na ordem em que são mencionadas no texto. As referências devem ser identificadas no texto, nas tabelas e legendas com números arábicos, entre parênteses, seguindo a mesma sequência. Os títulos das revistas devem ser abreviados de acordo com *List of Journals Indexed in Index*

Medicus disponível em: <http://www.nlm.nih.gov>.

Exemplos

Citações O material deve ser mantido em compressas embebidas em solução fisiológica para evitar o ressecamento (5). Aulisa(1) administrou heparina, por via intramuscular, em cobaias.

Udupa & Prasad (9) utilizaram osteoclasia manual do úmero sem imobilização Herbsman et al. (7) realizaram osteoclasia manual no fêmur e não imobilizaram. O rato apresenta níveis mais elevados de heparina que o homem (35,42,51). O mesmo autor obteve resultados semelhantes, mesmo com metodologias diferentes (22-26). *Referências* Indique somente até seis autores. Em caso de mais autores, usar et al. após o sexto autor.

1. Artigo de revista

Andrade SF, Sakate M. Intoxicação por amitraz: revisão. Vet Not. 2004;10:1-15. Modolo JR, Stachissini AVM, Gennari SM, Dubey JP, Langoni H, Padovani CV, et al. Freqüência de anticorpos anti-Neospora caninum em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. Pesq Vet Bras. 2008;28:597-9.

2. Organização como autor

Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 12nd ed. Washington; 1975. Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário: versão 7.1. Viçosa; 1997.

3. Livro

Modolo JR, Stachissini AVM, Castro RS, Ravazzolo AP. Planejamento de saúde para o controle da artrite-encefalite caprina. São Paulo: Cultura Acadêmica; 2003.

4. Capítulo de livro

Corrêa MC, Corrêa CNM. Estafilococias em geral. In: Corrêa MC, Corrêa CNM. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2a ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.91-103. Mendes AA, Saldanha ESPB. A cadeia produtiva da carne de aves no Brasil. In: Mendes AA, Naas IA, Macari M. *Produção de frangos de corte*. Campinas: FACTA, 2004. p.1-22

5. Artigos apresentados em congressos, reuniões, seminários etc

Malhado CHM, Piccinin A, Gimenez JN, Ramos AA, Gonçalves HC. Modelos polinomiais para descrever a curva de postura de codornas. In: *Anais do 3o Congresso Nordestino de Produção Animal*; 2004, Campina Grande. Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba; 2004.

p.1-3

6. Teses, dissertações e outros trabalhos acadêmicos

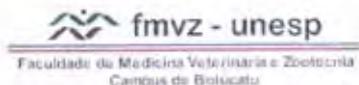
Mortari AC. Avaliação da técnica de transposição do músculo semitendinoso para reparo do

diafragma pélvico: estudo experimental em cães [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2004. 7. Publicações disponíveis na Internet Vasconcelos JLM. Endometrite subclínica em vacas leiteiras. Campinas; 2004 [cited 2004 Jan 16]. Available from: .

ANEXO 3



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"



Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Campus de Botucatu

A T E S T A D O

Atesto para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa "**Pesquisa de lesões no trato digestório superior de cães, pelo método de cromoendoscopia**", Protocolo nº 62/2011-CEUA, de **Emerson Legatti**, aluno do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Mestrado, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta Faculdade.

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, em 01 de abril de 2011.

Prof. Ass. Dr. Carlos Roberto Teixeira

Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu