



Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ENDOSCOPIA EM CÃES: ASPECTOS MACROSCÓPICOS E
MICROSCÓPICOS DA MUCOSA GÁSTRICA APÓS INTOXICAÇÃO
POR TETRACLORETO DE CARBONO E TÉCNICAS PARA
DETECÇÃO DE *HELICOBACTER SPP***

Brunno Medeiros dos Santos

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Naida Cristina Borges

GOIÂNIA

2012



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás-UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Brunno Medeiros dos Santos** E-mail: **brunnoms@hotmail.com**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? Sim Não

Vínculo Empregatício do autor: **Autônomo** Agência de fomento:

País: **Brasil UF:GO** CNPJ: Sigla:

Título: **ENDOSCOPIA EM CÃES: ASPECTOS MACROSCÓPICOS E MICROSCÓPICOS DA MUCOSA GÁSTRICA APÓS INTOXICAÇÃO POR TETRACLOROETO DE CARBONO E TÉCNICAS PARA DETECÇÃO DE HELICOBACTER SPP** Palavras-chave: **ENDOSCOPIA, HEPATITE, HELICOBACTER**

Título em outra língua: **ENDOSCOPY IN DOGS: MACROSCOPIC AND MICROSCOPIC STUDY OF THE GASTRIC MUCOSA AFTER CARBON TETRACHLORIDE INTOXICATION AND TESTS TO DETECT HELICOBACTER SPP.**

Palavras-chave em outra língua: **ENDOSCOPY, HEPATITIS, HELICOBACTER**

Área de concentração: **Patologia, Clínica e Cirurgia Animal** Data defesa: (dd/mm/aaaa)
30/11/2012

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): **Prof(a) Dra Naida Cristina Borges** E-mail: **naidaborges@yahoo.com.br**

Co-orientador(1): **Prof(a) Dra Maria Clorinda Soares Fioravanti** E-mail: **mariaclorinda@gmail.com**

Co-orientador(2): **Prof(a) Dra Veridiana Maria Brianezi Dignani de mouro** E-mail: **vdmoura@hotmail.com**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[X] Capítulos. Especifique: Capítulos 2 e 3.

[] Outras restrições: Não disponibilizar cópias das imagens.

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 29 de julho de 2013

Assinatura do(a) autor(a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

**ENDOSCOPIA EM CÃES: ASPECTOS MACROSCÓPICOS E
MICROSCÓPICOS DA MUCOSA GÁSTRICA APÓS INTOXICAÇÃO
POR TETRACLORETO DE CARBONO E TÉCNICAS PARA
DETECÇÃO DE *HELICOBACTER SPP***

Tese apresentada para obtenção do
grau de Doutor em Ciência Animal junto
à Escola de Veterinária e Zootecnia da
Universidade Federal de Goiás

Área de Concentração:

Patologia, Clínica e Cirurgia Animal

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Naida Cristina Borges . UFG

Comitê de Orientação:

Prof.^a Dr.^a Maria Clorinda Soares Fioravanti . UFG

Prof.^a Dr.^a Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura . UFG

GOIÂNIA

2012

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG**

Santos, Brunno Medeiros dos.

S237e Endoscopia em cães [manuscrito] : aspectos macroscópicos e microscópicos da mucosa gástrica após intoxicação por tetracloreto de carbono e técnicas para detecção de *helicobacter spp* / Brunno Medeiros dos Santos. ó 2012.

87 f. : figs, tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Naida Cristina Borges;
Coorientadoras: Prof^a. Dr^a. Maria Clorinda Soares Fioravanti,
Prof^a. Dr^a. Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura.

Tese (Doutorado) ó Universidade Federal de Goiás,
Escola de Veterinária e Zootecnia, 2012.

Bibliografia.

1. Cães ó Endoscopia. 2. *Helicobacter spp*. 3. Hepatite. I.
Título.

CDU: 636.7:616-072.1

MEDEIROS DOS SANTOS

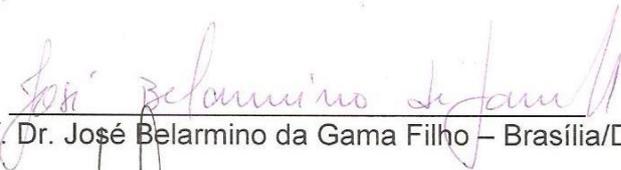
Tese defendida e aprovada em **30/11/2012** pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Profa. Dra. Naida Cristina Borges
(ORIENTADOR (A))



Profa. Dra. Andréia Vitor Couto do Amaral – UFG/Jataí



Prof. Dr. José Belarmino da Gama Filho – Brasília/DF



Prof. Dr. Adilson Donizeti Damasceno



Profa. Dra. Rosângela de Oliveira Alves Carvalho

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, pela oportunidade deste nível de especialização, e a toda equipe de técnicos e professores da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, por esses doze anos de acolhimento, formação profissional e pessoal. Pretendo honrar o título conferido por esta renomada instituição e continuar contando com a amizade e profissionalismo dos professores, funcionários e colegas de trabalho;

A professora Naida Cristina Borges, pela credibilidade de emprestar seu nome à minha orientação desde o mestrado. Obrigado pela confiança, pelos ensinamentos, pela paciência nos momentos difíceis e pelo comprometimento para que obtivéssemos êxito nas atividades desenvolvidas ao longo desses sete anos. Exemplo de dedicação e amor a profissão;

A minhas co-orientadoras, professora Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura, pelo enriquecimento proporcionado ao trabalho sempre que necessária sua interferência, e a professora Maria Clorinda Soares Fioravanti, pelo particular envolvimento com as atividades experimentais e principalmente pela presença marcante nos momentos decisivos;

A colega de experimento e membro da banca de defesa desta tese, Andréia Vítor Couto do Amaral, pela aceitação do meu nome no grupo, pela competente organização dos colaboradores e desenvolvimento de um delineamento experimental que permitiu a extração de importantes informações para ambos trabalhos;

Aos professores Adilson Donizeti Damasceno e Rosângela de Oliveira Alves, pela imensa contribuição nas diversas atividades acadêmicas nas quais estivemos envolvidos ao longo dessa trajetória;

Ao Dr José Belarmino da Gama Filho, pelo prestígio e correção da presente tese;

Aos graduandos Ana Paula de Souza, Ariane Mendes da Silva, Lorena Souza Oliveira, Rômulo Ferreira Silvaíno, residentes Ângela Moni Fonseca, Fernanda Ozelin de Pádua e pós-graduandos Ana Paula Araujo Costa, Andria de Melo Bogoevich, Sarah Barboza Martins e Liliane Aparecida Tanus Benatti, pelo

idade, os quais viabilizaram a execução deste trabalho;

A doutoranda Mariana Batista Faleiro e ao técnico do Laboratório de Patologia Animal da EVZ/UFG, Antonio Souza da Silva

Ao Médico Veterinário Wellintonn da Silva Gonçalves e a Hudson Lobato da Silveira, pelo empenho e responsabilidade com que vestiram a camisa;

A todos os familiares e amigos, que mesmo de longe se fizeram presentes com a torcida e pensamentos positivos;

A Ludmila Granja Alves por ter coberto minhas faltas no Serviço de Inspeção e Fiscalização Estadual de Produtos de Origem Animal da Agência Goiana de Defesa Agropecuária (Agrodefesa) nas ocasiões em que não pude estar presente;

A meu primo, Rodolfo Rodrigues, pela intercessão junto a presidência da Agência Municipal do Meio Ambiente no sentido de garantir meu direito a flexibilização de jornada de trabalho no Zoológico de Goiânia, ainda que em estágio probatório, o que me permitiu concluir as atividades experimentais em tempo hábil;

A meu alicerce, minha família. A meu pai, Antônio Medeiros de Oliveira, pelo suporte e direcionamento nesta ~~breve~~ caminhada do ensino fundamental até aqui. A minha namorada, Luciana Silva de Carvalho, pelo comprometimento e motivação. A minha irmã, Uliana Medeiros dos Santos, que durante toda sua graduação e recém formação em medicina veio compartilhando expectativas e entusiasmos com a profissão e experimentação científica. A minha mãe, Maria Madalena dos Santos Medeiros, pela dedicação, orações e bravura da brilhante administração da Clínica Veterinária Medcão durante todo o tempo em que estive ausente. Sintam-se diplomados, essa vitória é nossa;

Aos animais, reitero meu juramento profissional de busca da harmonização perfeita entre ciência e arte, aplicando os conhecimentos técnicos e científicos em benefício da prevenção e cura de suas doenças;

Agradeço a Deus pela benção da saúde e iluminação dos caminhos.



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Chegará o dia em que o homem conhecerá o íntimo de um animal. E, nesse dia, todo o crime contra um animal será um crime contra a humanidade.

Leonardo da Vinci

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	É Considerações Gerais	1
1.1	Introdução	1
1.2	Anatomia e histologia do estômago	1
1.3	Mecanismos de defesa da mucosa gástrica e resposta a agressão	4
1.4	Tetracloro de carbono e gastropatia	7
1.5	Endoscopia digestiva alta em cães	9
1.6	Avaliação da integridade da mucosa gástrica	14
	REFERÊNCIAS	21
CAPÍTULO 2	É Gastrosopia e histologia da mucosa gástrica de cães intoxicados experimentalmente com tetracloro de carbono	31
	RESUMO	31
	ABSTRACT	32
	INTRODUÇÃO	33
	MATERIAL E MÉTODOS	34
	Animais	34
	Delineamento experimental e tratamento	35
	Avaliação bioquímica sérica	35
	Gastrosopia	36
	Avaliação histológica	38
	Análise estatística	39
	RESULTADOS	39
	DISCUSSÃO	46
	CONCLUSÃO	50
	REFERÊNCIAS	51
CAPÍTULO 3	É Comparação de técnicas para a detecção de <i>Helicobacter spp</i> na mucosa gástrica de cães	55
	RESUMO	55
	ABSTRACT	56
	INTRODUÇÃO	57
	MATERIAL E MÉTODOS	59
	Animais	59
	Delineamento experimental	59
	Gastrosopia	60
	Exame de citologia	61
	Teste rápido de urease	62
	Pesquisa de <i>Helicobacter spp</i> em cortes histológicos	63
	Análise estatística	65
	RESULTADOS	65
	DISCUSSÃO	68
	CONCLUSÃO	71
	REFERÊNCIAS	72
CAPÍTULO 4	É Considerações Finais	76

STA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

FIGURA 1	Vista caudal do corte transversal do estômago canino em posição anatômica	2
FIGURA 2	Esquema da arquitetura da parede do estômago	3

CAPÍTULO 2

FIGURA 1	Fotomicrografia das regiões glandulares estudadas e principais alterações histológicas verificadas em cães intoxicados com tetracloreto de carbono por via oral	44
FIGURA 2	Fotomicrografia das principais alterações histológicas verificadas em cães intoxicados com tetracloreto de carbono por via oral	45

CAPÍTULO 3

FIGURA 1	Pinças empregadas para realização das biopsias gástricas	61
FIGURA 2	Fotomicrografia do muco corado por Giemsa	62
FIGURA 3	Teste rápido de urease	63
FIGURA 4	Fotomicrografia de cortes histológicos da fovéola gástrica colonizada por helicobactérias	64
FIGURA 5	Fotomicrografia de cortes histológicos corados por Warthin-Starry	64

CAPÍTULO 2

TABELA 1	Médias e desvios padrão (DP) da atividade sérica de ALT, AST, ALP, GGT e quantificação de bilirrubina total, proteína total e albumina em cães hípidos (Momento 0), 24 horas (Momento 1) e sete dias (Momento 2) após intoxicação por tetracloreto de carbono via oral	40
TABELA 2	Frequências absolutas e mediana dos escores da distensibilidade, hiperemia, edema, friabilidade, palidez, hemorragia, erosão, úlcera, resistência pilórica e conteúdo gástrico avaliados por endoscopia em cães hípidos (Momento 0), 24 horas (Momento 1) e sete dias (Momento 2) após intoxicação por tetracloreto de carbono via oral	42
TABELA 3	Frequência absoluta dos escores e mediana da lesão epitelial, edema, hiperemia, hemorragia e infiltração de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria nas regiões do antro (A), corpo (C) e fundo (F) gástricos, avaliadas por histologia, em cães hípidos (Momento 0), 24 horas (Momento 1) e sete dias (Momento 2) após intoxicação por tetracloreto de carbono via oral	43

CAPÍTULO 3

TABELA 1	Análise de discordância entre o exame de citologia, teste rápido de urease (TRU) e pesquisa de <i>Helicobacter spp</i> em cortes histológicos corados por hematoxilina e eosina (HE), Giemsa (GI) e Warthin-Starry (WS) nas regiões do antro, corpo e fundo do estômago.....	66
TABELA 2	Frequência absoluta por densidade de colonização (DC), prevalência e sensibilidade dos exames de citologia, teste rápido de urease (TRU) e pesquisa de <i>Helicobacter spp</i> em cortes histológicos corados por hematoxilina e eosina (HE), Giemsa (GI) e Warthin-Starry (WS) nas regiões do antro, corpo e fundo do estômago de cães	67
TABELA 3	Densidade média de colonização (DMC) e desvios padrão (DP) dos escores da densidade de colonização (DC) por <i>Helicobacter spp</i> no antro (A), corpo (C) e fundo (F) gástrico de cães verificados em corte histológico corado por WS	68

RESUMO

A mucosa é a camada gástrica mais vulnerável a lesões, pois representa a interface entre o meio externo e o organismo. Por esse motivo, apresenta mecanismos específicos que visam a manutenção da integridade, entretanto, quando o agente desencadeante persiste ou é muito agressivo, os mecanismos de defesa são suplantados e ocorrem as lesões na mucosa. O exame de endoscopia é a principal técnica para a identificação dessas lesões e apresenta a vantagem de facilitar a colheita de material para confirmações bacteriológicas e histológicas do agente agressor. O presente estudo teve por objetivos avaliar os aspectos gastroscópicos e histológicos da mucosa gástrica de cães intoxicados experimentalmente com tetracloreto de carbono e identificar a técnica mais eficiente em detectar bactérias do gênero *Helicobacter* no estômago de animais desta espécie, por meio da comparação das técnicas de citologia, teste rápido de urease e cortes histológicos corados por HE, Giemsa e Warthin-Starry (WS). Nos cães intoxicados verificou-se à gastroscopia hiperemia e hemorragia e à histologia edema, hiperemia e hemorragia. A prevalência em detectar helicobactérias foi maior no exame de citologia e a sensibilidade mais elevada nos cortes histológicos corados por WS. Conclui-se que a administração de CCl_4 por via oral aos cães causa alterações circulatórias difusas na mucosa gástrica e que a técnica mais eficiente para a pesquisa de bactérias do gênero *Helicobacter* é a citologia, sendo o fundo gástrico a região mais apropriada para colheita das amostras.

Palavras-chave: endoscopia, hepatite, *Helicobacter*.

ABSTRACT

The mucosa is the most vulnerable gastric layer to damage, as it is the interface between the external environment and the body. For this reason, it presents specific mechanisms to maintain the integrity, but, when the triggering agent persists or is very aggressive, the defense mechanisms are overcome and mucosal injuries manifest. The endoscopy is the main technique for identifying this type of injury and it has the advantage of facilitating the material collection for the bacteriological and histological confirmation of the causing agent. The present study aimed to evaluate the gastroscopic and histological aspects of the gastric mucosa of dogs experimentally intoxicated with carbon tetrachloride and to identify the most efficient technique for detecting the bacteria of the genus *Helicobacter* in the stomach of this animal species by comparing the techniques of cytology, fast urease test and histological sections stained with HE, Giemsa and Warthin-Starry (WS). In poisoned dogs there were hyperemia and hemorrhage by gastroscopy and histology edema, hyperemia and hemorrhage. The *Helicobacter* detecting prevalence was higher in the cytology exam and the sensitivity was higher in histological sections stained with WS. It was concluded that orally administration of CCl_4 to dogs cause diffuse circulatory changes in gastric mucosa and the most efficient technique to *Helicobacter spp* research is the cytology, being gastric fundus the most suitable region for sampling.

Keywords: endoscopy, hepatitis, *Helicobacter*.

1.1 Introdução

Dados estatísticos reportam que a casuística das afecções do trato gastrointestinal estão entre as razões mais comuns pelas quais os proprietários de animais de companhia requisitam assistência veterinária, suplantado apenas pelos atendimentos em dermatologia. Entretanto, além de se tratar de um sistema bastante flexível, que resiste a uma variedade de desafios e agressões com o mínimo de efeito prejudicial, quando os sinais clínicos se manifestam geralmente são inespecíficos, o que reforça a importância da utilização de recursos semiológicos para abordagem satisfatória desse sistema, entre os quais apresenta-se a técnica de endoscopia.

Além disso, as afecções desse sistema frequentemente desencadeiam graves repercussões, haja vista sua função primordial de extrair dos alimentos os nutrientes e disponibilizá-los para utilização em todas as funções orgânicas, o que justifica o estudo de toda causa que possa comprometer sua higidez, entre elas as de origem hepática e as causadas pela presença de helicobactérias na mucosa gástrica, das quais o conhecimento das técnicas de detecção também se fazem relevantes.

Nesse sentido o presente estudo teve por objetivos avaliar os aspectos macroscópico, por gastroscopia, e microscópicos, por histologia, da mucosa gástrica de cães intoxicados experimentalmente com tetracloreto de carbono e identificar a técnica mais eficiente em detectar bactérias do gênero *Helicobacter* no estômago de animais desta espécie por meio da comparação das técnicas de citologia, teste rápido de urease e cortes histológicos corados por HE, Giemsa e Warthin-Starry.

1.2 Anatomia e histologia do estômago

O estômago é uma dilatação do canal alimentar, localizado na porção cranial esquerda do abdômen e com capacidade de 100 a 250 mL/kg animal. Anatomicamente a face mucosa é dividida em cárdia, fundo, corpo,

o estômago é o ponto de entrada do segmento esofágico ao nível das 11^a e 12^a vértebras torácicas, o fundo é uma grande bolsa de fundo cego cranial e dorsalmente à esquerda do cárdia, o corpo corresponde a porção média e o antro ao terço distal do órgão, já o piloro é a válvula muscular que regula o esvaziamento gástrico (GETTY, 1986).

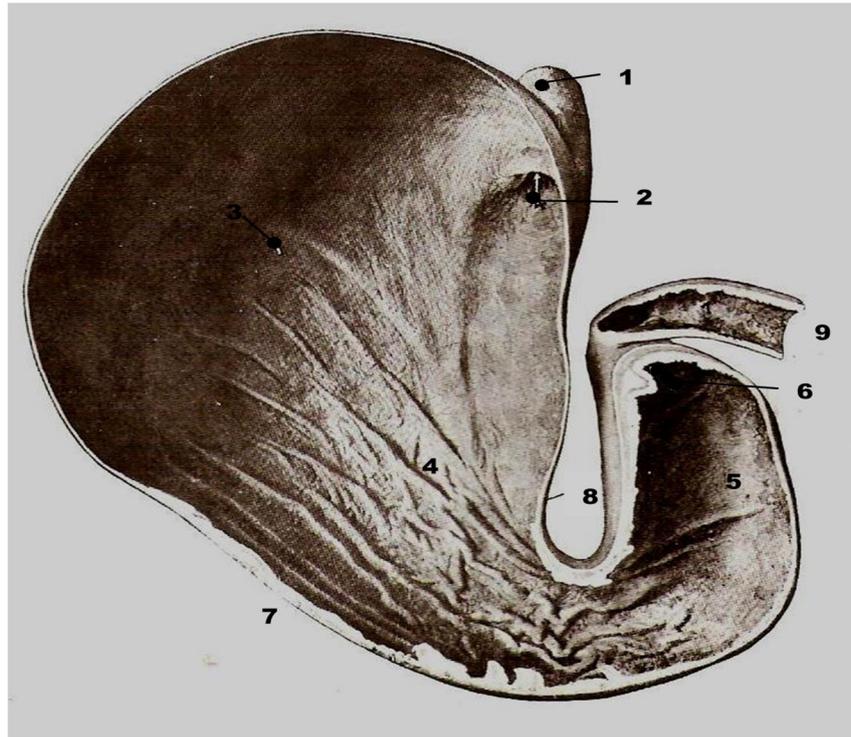


FIGURA 1 . Vista caudal do corte transversal do estômago canino em posição anatômica. 1 - Esôfago, 2 . Cárdia, 3 . Fundo, 4 . Corpo, 5 - Antro, 6 . Piloro, 7 . Curvatura Maior, 8 . Curvatura menor, 9 . Duodeno.

Fonte: GETTY (1986)

Funcionalmente essas cinco regiões do estômago podem ser organizadas em dois segmentos, o proximal (cárdia, fundo e corpo), que se dilata para acomodar temporariamente o alimento e secreta suco gástrico, e o distal (antro e piloro), responsável por liberação e regulação do ácido clorídrico, fracionamento mecânico do alimento e limitação das dimensões das partículas a serem lançadas no duodeno (WILLARD et al., 2002).

parede do estômago é constituída por quatro camadas descritas da luz para a parede do órgão; túnica mucosa, submucosa, muscular e serosa (SAMUELSON, 2007).

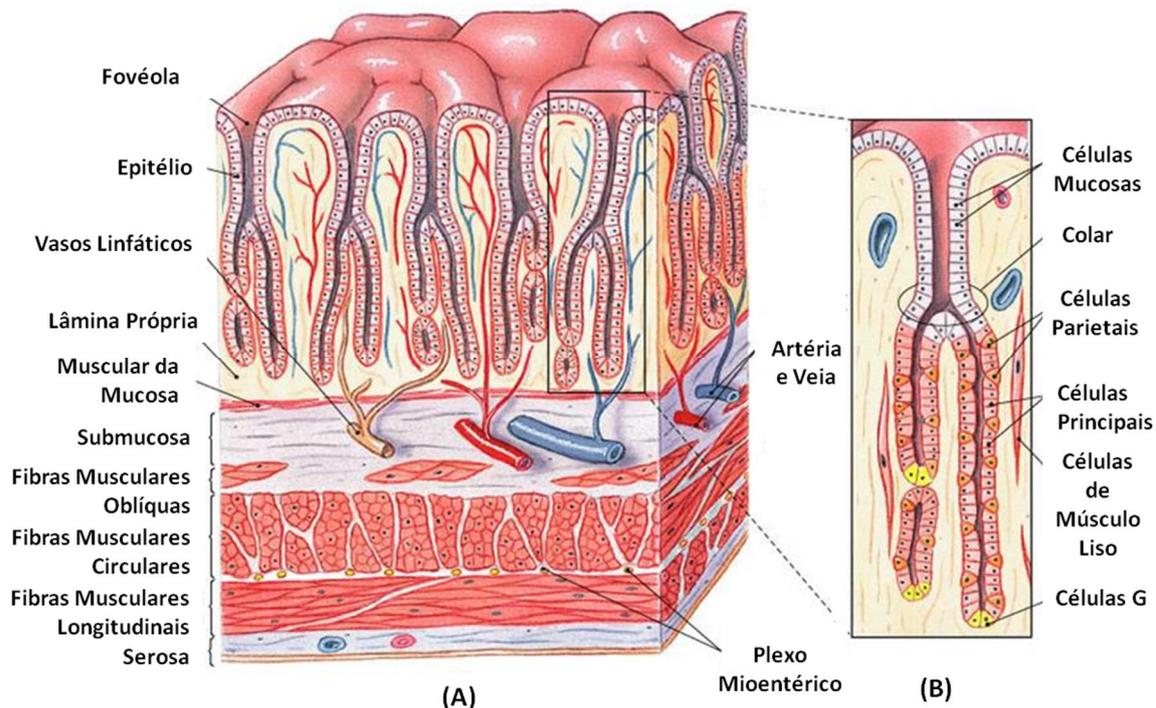


FIGURA 2 . Esquema da arquitetura da parede do estômago. A) Constituição das camadas: mucosa (epitélio, lâmina própria e camada muscular da mucosa), submucosa (vasos sanguíneos e linfáticos), camada muscular (fibras musculares oblíquas internas, circulares médias e longitudinais externas) e serosa. B) Constituição da glândula gástrica: células mucosas, parietais, principais, células G e músculo liso

Fonte: <http://www.austincc.edu/preview/PhysText/Digestive.html>

A serosa é o revestimento externo que se relaciona com a cavidade peritoneal, por meio da qual as estruturas vasculares e linfáticas acessam o órgão. A camada muscular é bastante desenvolvida, responsável pelo tônus do órgão, diâmetro da luz e deslizamento da mucosa, constituída por uma camada longitudinal externa ao longo das curvaturas, por fibras circulares médias, que circulam o corpo do estômago e se espessam para formar o esfíncter pilórico, e por fibras oblíquas internas, que formam uma camada incompleta que recobre apenas o corpo e o fundo. A submucosa apresenta constituição típica, na qual

com vasos, tecido conjuntivo e arranjos mucoso (BANKS, 1998; SAMUELSON, 2007).

A mucosa é a camada mais interna que reveste a luz do órgão. É constituída pelo epitélio de revestimento, lâmina própria e camada muscular da mucosa. A camada muscular da mucosa é uma delgada camada de músculo liso que separa a submucosa da mucosa. A contração dessa camada torna evidentes as dobras gástricas. A lâmina própria possui celularidade variada (linfócitos, plasmócitos e macrófagos), folículos linfóides e abriga as glândulas gástricas (BANKS, 1998; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

O epitélio colunar simples da mucosa gástrica reveste, além da superfície luminal, estreitos canais que se aprofundam na lâmina própria, denominados fovéolas gástricas, formando colunas de células secretoras chamadas glândulas gástricas (Figura 2B). Entretanto, em função da profundidade das fovéolas e da constituição celular da glândula distinguem-se as regiões glandulares cárdica, fúndica e pilórica (DUKES, 2007; SAMUELSON, 2007).

A região glandular cárdica abrange a abertura do esôfago no estômago, se caracteriza por fossetas e glândulas de mesmas proporções e constituição histológica. A região glandular fúndica compreende fundo e corpo gástricos, apresenta fosseta curta e glândula longa, constituída por células mucosas, principais, parietais e argentafins. A região glandular pilórica vai do antro a entrada do duodeno e apresenta fosseta longa e glândula longa, constituída basicamente por células mucosas, G e argentafins (SAMUELSON, 2007; SANTOS & ALESSI, 2010).

1.3 Mecanismos de defesa da mucosa gástrica e resposta à agressão

Os mecanismos de defesa da mucosa gástrica podem ser divididos em três níveis, pré-epitelial, epitelial e pós-epitelial. A defesa pré-epitelial é representada pela camada de muco e de bicarbonato, que impede que os fatores agressivos atinjam a célula epitelial. O muco e o bicarbonato são secretados pelas células epiteliais do estômago e glândulas de Brunner no duodeno, na forma de solução viscosa ou como gel insolúvel de glicoproteínas,

e de espessura variada, de cinco a dez vezes equilíbrio dinâmico, adere firmemente à mucosa protegendo-a da ação do ácido, pepsina e sais biliares. Sua ação lubrificante previne ainda a ocorrência de lesões mecânicas (SPECHLER et al., 2002; RUBESIN, et al., 2005).

Ao manter uma camada não removível de água em seus interstícios, o muco retarda a difusão do íon hidrogênio, o que permite que os íons bicarbonato possam neutralizá-lo escalonadamente à medida que nele penetra e aprofunda, criando assim um gradiente de pH entre o lúmen, próximo a 2,0, e a superfície mucosa, em torno de 6,0. As glicoproteínas nessa camada formam uma barreira física que, enquanto intactas, retardam a difusão dos agentes agressores. Os fosfolipídios do muco contribuem também para a proteção da mucosa, pois formam uma camada hidrofóbica que repele o ácido na superfície luminal do gel de muco (GEOR & PAPICH, 1995).

O segundo nível de defesa é representado pelo epitélio. A barreira mucosa é a propriedade do estômago de impedir a difusão de H^+ do lúmen gástrico para a mucosa e do Na^+ do espaço intersticial para a cavidade gástrica. A presença de cargas elétricas fixas dentro dos canais pelos quais o hidrogênio se difunde faz com que as junções entre as células da superfície epitelial sejam especialmente firmes, impedindo a difusão retrógrada do hidrogênio carregado positivamente, o que confere maior resistência às lesões (WILLARD et al., 2002).

Os fosfolipídios ativos de superfície conferem à membrana celular característica hidrofóbica, permitindo a passagem de moléculas lipossolúveis e impedindo a passagem dos íons H^+ , solúveis em água. Além disso, a barreira é regulada por mediadores locais, como o fator de crescimento epidérmico, secretado pelas glândulas salivares e presente em elevadas concentrações no suco gástrico. Este peptídeo age sobre receptores da membrana apical, aumentando a resistência da camada única do epitélio gástrico via elevação do fluxo sanguíneo e remoção de radicais livres (SOLL et al., 2002).

As prostaglandinas também representam um importante mecanismo de defesa epitelial, especialmente a E e I. Atuam inibindo a secreção ácida e aumentando a resistência da mucosa às agressões por mecanismos independentes da inibição da secreção ácida, conhecidos por citoproteção.

o e bicarbonato, favorecem a regeneração e fosfolípidos da membrana e aumentam o fluxo sanguíneo da mucosa (WILLARD et al., 2002).

A microcirculação representa o terceiro nível de defesa da mucosa, modulado pelo sistema nervoso e mediadores inflamatórios e interfere diretamente nos outros mecanismos de defesa. A densa rede capilar abaixo do epitélio assegura alta taxa de fluxo sanguíneo para a mucosa. O sangue além de nutrir os tecidos, proporciona rápida remoção, diluição ou neutralização de ácidos, toxinas ou substâncias que romperam a barreira epitelial, prevenindo seu acúmulo na mucosa em concentrações citotóxicas. A hiperemia reativa que se segue ao dano epitelial também provê uma capacidade tampão adicional (SPIRT, 2004).

Em situações de agressão aguda, o epitélio gastroduodenal é reparado por um processo rápido, entre 30 e 60 minutos, que envolve apenas migração celular, chamado regeneração epitelial. Esse mecanismo é a principal defesa da mucosa contra as forças de cisão. As células lesadas liberam seu muco, e este juntamente com restos celulares e plasma que extravasa dos capilares da mucosa, formam um tampão mucoso que impede a exposição da membrana basal ao ácido. Em minutos as células saudáveis vizinhas se achatam e migram ao longo da membrana basal até se encontrarem para formar novas junções firmes e, dentro de 15 minutos a uma hora, deixar o epitélio intacto novamente (WALLACE & MA, 2001).

Nas ocasiões em que o agente causal persiste ou é muito agressivo, a restituição epitelial não é eficiente e inicia-se a inflamação. Segundo WALLACE & MA (2001), a resposta inflamatória do trato gastrointestinal, coordenada por mediadores químicos formados e liberados pelo epitélio, é uma resposta fisiológica e frequentemente auto limitante que tem por objetivo a eliminação do agente desencadeante. Na fase aguda cursa com edema, hiperemia e erosões superficiais em quase 100% dos casos, no entanto, se houver uma resposta exacerbada a um estímulo comum, a grande intensidade da inflamação pode prejudicar as funções da mucosa, alterar a capacidade de resistir a injúrias, comprometer a realização de reparos e favorecer a evolução da lesão tecidual.

Por outro lado, caso o agente persista, a progressão para a

Em ambas circunstâncias a lesão pode ser decorrente da erosão da mucosa e erodir pequenas artérias da submucosa, o que caracteriza as úlceras. Nesses casos, há especial envolvimento dos fatores de crescimento, proliferação celular, ativação de fibroblastos e angiogênese, processo de reparo conhecido atípica ou cicatrização (COELHO, 2001).

1.4 Tetracloreto de carbono e gastropatia

O tetracloreto de carbono também é denominado perclorometano, tetracloreto de metano, tetraclorometano, benzifórmio, tetrafórmio ou tetrasol. É um composto orgânico de fórmula química CCl_4 , formado por quatro átomos de cloro posicionados simetricamente em configuração tetraédrica, ligados a um átomo de carbono central por simples ligação covalente. É líquido, incolor, imiscível em água, de cheiro adocicado característico, não inflamável a baixas temperaturas e que age como solvente de compostos não polares, gorduras e óleos (DOHERTY, 2000).

Ao tornarem conhecidos seus efeitos adversos à saúde humana e o elevado coeficiente de depleção da camada de ozônio, sua utilização caiu em desuso. Em 1990, o tetracloreto de carbono foi uma das substâncias adicionadas pela emenda de Londres ao Protocolo de Montreal, cuja produção e comercialização passaria a ser proibida. A partir de 1996, essa proibição passou a vigorar nos países desenvolvidos e, recentemente, foi estendida aos países em desenvolvimento. Atualmente sua utilização limita-se a alguns agentes refrigerantes e principalmente na investigação científica de agentes hepatoprotetores (ODABASI, 2008).

São graves os efeitos deletérios decorrentes da introdução de tetracloreto de carbono no organismo. FERREIRA (1998) comparou a radiodensidade obtida por tomografia computadorizada do tecido hepático de cães antes e após a administração de tetracloreto de carbono, verificando que a dose única de 1,5ml/kg por via oral resultou em correlação positiva entre o grau de necrose do tecido hepático e os níveis de ALT no soro e correlação negativa entre os níveis de ALT no soro e os valores de radiodensidade.

2001) verificaram que em ratos submetidos à administração de 5, 7, 9, 12 e 15 semanas, a cirrose se estabelece em 100% dos animais a partir da 12ª semana de inalação. Segundo LI et al. (2002), a aplicação intraperitoneal de 0,15ml/100g de peso vivo de CCl₄, três vezes por semana e durante oito semanas, causa fibrose hepática em ratos. Ao aplicar 3ml/kg via intradérmica, na primeira injeção, seguida de duas aplicações semanais de 2ml/kg de CCl₄ durante 12 semanas, YONGPING et al. (2009) induziram cirrose em 80% dos ratos estudados.

A patogênese das gastropatias que se desenvolvem na insuficiência hepática é de origem multifatorial e inclui aumento da secreção ácida gástrica e alteração do fluxo sanguíneo na mucosa. O aumento da secreção ácida do estômago se deve principalmente à diminuição da degradação hepática de gastrina e histamina, que resulta em aumento nos níveis sanguíneos destes secretogogos (GUILFORD et al., 1996).

O fígado insuficiente apresenta inflamação, fibrose, necrose e alterações estruturais do parênquima que levam à resistência a passagem do fluxo sanguíneo e conseqüente formação de vasos colaterais, chamados colaterais portossistêmicos, que desviam sangue do fígado diretamente para circulação sistêmica, o que é definido como síndrome da hipertensão portal [SHP] (FARIAS-SILVA et al., 2007).

Essa diminuição e estase do fluxo sanguíneo no estômago leva comumente ao aparecimento de varizes esôfago-gástricas e da gastropatia portal hipertensiva (GPH), que se caracteriza endoscopicamente por edema e áreas hiperêmicas não hemorrágicas, separadas por mucosa aparentemente normal, lesões estas definidas como padrão em mosaico, pele de cobra ou estômago em melancia (THULUVATH & YOOD, 2003). Histologicamente verifica-se dilatação vascular na mucosa e submucosa na ausência de erosões ou inflamação (PAPAZIAN, et al.; 1986; TOYONAGA & IWAO, 1998).

Outras condições verificadas em pacientes porta-hipertensos são a encefalopatia hepática, síndrome hepatorenal, peritonite bacteriana espontânea e a cardiomiopatia cirrótica, disfunção cardíaca resultante da diminuição da resistência vascular periférica e distribuição sanguínea anormal ocasionada pela vasodilatação esplâncnica (BLENDIS & WONG, 2000).

posta, diversas outras podem comprometer a , o que destaca a importância dos exames complementares que permitem sua avaliação, entre eles o exame de endoscopia.

1.5 Endoscopia digestiva alta em cães

O termo endoscopia é de origem grega, formado pelo prefixo *endo* (dentro) e verbo *skopia* (ver ou observar). Trata-se de um recurso semiológico minimamente invasivo e não traumático, complementar ao exame clínico e que permite inspeção visual das superfícies mucosas. Pode ser aplicado ao exame do sistema respiratório (laringoscopia, traqueoscopia, broncoscopia), gastrointestinal (endoscopia digestiva alta . esôfago, estômago e duodeno; e baixa . ceco, cólon e reto), cavidade torácica (toracoscopia), abdômen (laparoscopia), trato urinário (cistoscopia) e articulações (artroscopia) (AZEVEDO, 2006).

Esta é uma técnica anterior à radiologia, desenvolvida em 1806 por Philipp Bozzini, considerado pai da endoscopia, quando os primeiros obstáculos eram a restrição do campo de visão e dificuldade em transmissão de luz suficiente para o local a ser examinado. Em 1879, na Alemanha, Maximilian Nitz inovou com um equipamento que possuía lentes ópticas e iluminação por fonte elétrica em sua extremidade, o cistoscópio de Nitz. Em 1910, Hans Christian Jacobaeus realizou a primeira toracoscopia. Após a segunda guerra mundial as fibras ópticas, insufladores e irrigadores automáticos permitiram um salto de qualidade e, na década de 60, foi alcançada a fibroscopia. Em 1984, as imagens começaram a ser captadas por câmeras e, na década de 90, a vídeoendoscopia tornou-se uma realidade (CORDEIRO, 2000).

1.5.1 Instrumental e técnica de exame endoscópico

TAMS (2005) recomenda para a endoscopia de pequenos animais equipamentos fibro ou vídeoendoscópicos pediátricos, com deflexão em quatro

metro de comprimento, com 7,8 a 9,0 milímetros deve estar acoplado a aspirador, insuflador, irrigador, fonte de luz e ter a disposição pinças de apreensão e de biopsia de diversas características e tamanhos.

Para a realização do exame, o animal é colocado em decúbito lateral esquerdo, com a cabeça e o pescoço estendidos. Em caso de animal entubado, o endoscópio deve ser direcionado centralmente através da orofaringe e guiado dorsalmente ao tubo endotraqueal e laringe. Após a passagem pelo esfíncter esofágico cranial, tem-se a visão do esôfago, que deve ser insuflado para que o endoscópio possa avançar até seu terço distal, chegando à junção esofagogástrica. Nesta junção, o esôfago passa obliquamente através do diafragma para entrar no estômago. Na câmara gástrica realiza-se a insuflação do órgão para melhor visualização e, seguindo a curvatura maior, o equipamento é guiado ao piloro e duodeno proximal. No antro pilórico procede-se a retroflexão para a observação do cárdia, curvatura menor e do fundo. Ao final do procedimento é realizada a aspiração do ar e a retirada do endoscópio (SHERDING et al., 1999).

Para a realização de biopsia utilizam-se pinças de fórceps serrilhado ou do tipo baioneta. A pinça é introduzida através do canal de biopsia do endoscópio e exposta na cavidade gástrica. Após ser aberta, é empurrada contra a parede gástrica e então fechada para prender a mucosa e, em seguida, puxada de volta para o interior do endoscópio, removendo o fragmento. A pinça é mantida fechada até que saia do equipamento e no meio externo é novamente aberta para retirada do fragmento (CORDEIRO et al., 2000). Dado o pequeno tamanho da amostra, entre dois e três milímetros, é importante dispor de material afiado e domínio da técnica para a obtenção de fragmentos de boa qualidade para o exame histológico (GUILFORD, 2005).

1.5.2 Indicações e aplicações

No início de sua utilização em medicina veterinária, a endoscopia era empregada apenas como recurso semiotécnico para avaliação da integridade da mucosa. Comprovados seus benefícios, passou a ser

material (biopsia, citologia e cultura), aplicação de sondas e tubos de alimentação, como guia para a dilatação de pontos de constrição, realização de cirurgias, remoção de corpos estranhos, acompanhamento do tratamento clínico, de condições neoplásicas e afecções tratadas cirurgicamente (AZEVEDO, 2006).

A endoscopia é indicada principalmente no diagnóstico de doenças infiltrativas, erosivas e que levam a alterações anatômicas, mas raramente auxilia em pacientes com diarreia aguda, ou seja, inferior a três semanas (WASHABAU et al., 2010). Os sinais clínicos potencialmente indicativos para a realização de endoscopia digestiva são regurgitação, disfagia, mímica de vômito, salivação excessiva, vômitos, hematemesa, diarreia, melena, disquezia, constipação, incontinência fecal (TAMS, 2005).

TEIXEIRA et al. (2010) relataram oito casos de obstrução esofágica em cães, diagnosticados e tratados por meio de endoscopia. Destes, sete animais apresentaram corpo estranho ósseo no esôfago, sendo um cervical e seis torácicos e, um cão com corpo estranho plástico na base do coração. Para o diagnóstico foi utilizado endoscópio flexível, segundo os autores, mais eficiente que o rígido na identificação da obstrução e avaliação das condições da mucosa, e o tratamento realizado com endoscópio rígido, pois este permite a passagem de pinças de maior calibre para retirar as estruturas ou deslocá-las no sentido aboral.

SILVA et al. (2010) empregaram a endoscopia para o diagnóstico e o tratamento da estenose esofágica resultante de abundante refluxo gástrico pós-operatório em cão. Constatada a presença de anéis fibrosos no esôfago torácico, optou-se pelo alargamento mecânico semanal por meio de velas dilatadoras metálicas. Ao final das seis seções o animal ingeria alimentos pastosos sem episódios de regurgitação. A melhora clínica foi permanente e o paciente voltou a se alimentar de ração seca ao final do tratamento.

Segundo KLUG et al. (2008), a colonoscopia é o melhor método diagnóstico para as doenças do cólon e reto em virtude da precisão, acurácia, facilidade de biopsias e possibilidade de procedimentos terapêuticos. É o método de eleição para acompanhamento e a prevenção de doenças neoplásicas. Sua vantagem sobre outras técnicas é acentuada pela possibilidade de visualizar o íleo terminal, documentar fotograficamente as

as áreas suspeitas para revisão posterior e mucosa para minuciosa observação.

MOUTINHO et al. (2007) avaliaram a prevalência de helicobactérias e alterações na mucosa gástrica de cães saudáveis. BEHLE (2008) utilizou videoendoscopia e histologia para avaliar os efeitos do meloxicam sobre a mucosa gástrica de cães da raça poodle. GUÍMARO (2010) comparou a imagem endoscópica com a avaliação histológica em 73 cães com doença inflamatória intestinal.

1.5.3 Limitações, complicações e contraindicações

Apesar de bastante útil no exame da morfologia do trato gastrointestinal e na realização de biopsias, citologia e cultura, a endoscopia não é técnica adequada para a avaliação de função e diâmetro dos órgãos, pois apenas alterações intraluminais e de mucosa podem ser distinguidas (GUALTIERI, 2001).

Em geral as amostras de biopsia variam de dois a três milímetros de profundidade, não alcançando as camadas submucosa, muscular e serosa. Repetidas amostras podem ser colhidas no mesmo sítio para a obtenção de tecidos mais profundos. No entanto, nesses casos o risco de perfuração é potencializado (GUILFORD, 2005).

Em cães de grande porte, o endoscópio pode ser introduzido até o duodeno descendente, enquanto nos de pequeno porte e gatos chega no máximo ao duodeno proximal, sendo que em ambos casos a maioria do jejuno não é examinada (ZORAN, 2001).

A maioria das doenças do trato gastrointestinal em cães e gatos possui caráter difuso e está comprovado que a severidade da inflamação varia nos diferentes segmentos intestinais (DENNIS et al., 1992). Por isso, para uma amostragem representativa e melhora da capacidade diagnóstica recomenda-se a obtenção de múltiplos fragmentos de diversas áreas (WASHABAU et al., 2010).

Embora incomuns, as complicações podem ocorrer. Para RICHTER (2001), a maioria das desordens advindas dos exames de endoscopia está

No entanto, segundo SIPE (2002), é difícil
s sobre a contribuição individual da anestesia

e do procedimento endoscópico em si como fatores de risco para hipóxia, alterações eletrocardiográficas e de pressão arterial.

Perfurações gastrointestinais ocorrem principalmente quando da tentativa de remoção de corpos estranhos esofágicos e duodenais em que haja lesão da mucosa, e em pacientes com doenças graves que necessitem de biopsia e apresentam úlceras gástricas. Perfuração de estômago, duodeno e cólon são as mais raras e ocorrem geralmente quando excesso de força é colocado no equipamento ou em práticas incorretas de biopsia (ZORAN, 2001; TAMS, 2005).

Ao realizar estudo retrospectivo de 117 casos de óbito com relato de contribuição da endoscopia como causa da morte, DEROUX & SGARLATO (2012) verificaram que das 77 necropsias realizadas em humanos, 41 estiveram relacionadas com complicação na endoscopia digestiva alta e 36 com complicações na endoscopia digestiva baixa, com perfuração em 24 pacientes. Tendo em vista o grande número de exames realizados dentro do período, pode-se dizer que o risco do procedimento foi baixo, 0,014% de mortalidade e 0,00625% de perfuração à colonoscopia.

Diminuição do retorno venoso ao coração e conseqüente hipóxia pode ocorrer quando o estômago é inflado em excesso e comprime a veia cava caudal, semelhante ao que ocorre na síndrome de dilatação vólculo-gástrica. Outro aspecto importante é a distensão abdominal desenvolvida, pois pode restringir a capacidade de expansão dos pulmões durante a inspiração e assim piorar o grau de hipóxia. Além disso, grandes volumes de ar residual deixados no estômago ao final do procedimento ainda podem ocasionar torção de origem iatrogênica (TAMS, 2005).

A bradicardia desenvolve-se como resultado do excesso de pressão aplicada para favorecer a entrada do equipamento no duodeno ou quando há tração mesentérica, pois desencadeiam estimulação vagal. As hemorragias se originam principalmente das mucosas mais desvitalizadas e raramente requerem intervenção pontual (ZORAN, 2001).

A endoscopia é contraindicada quando há presença de gás extraluminal, exsudato séptico à paracentese e suspeita de perfuração

umenta o risco de contaminação da cavidade . Quando os achados endoscópicos não correspondem aos sinais clínicos, na elucidação de suspeitas de neoplasia, risco iminente de peritonite ou quando há pobre resposta à terapia medicamentosa, TAMS (2005) recomenda a investigação via laparotomia exploratória.

Outra contraindicação é verificada quando o preparo do paciente é inadequado. Recente ingestão de bário como meio de contraste para a avaliação radiográfica e a presença de partículas alimentares, além de dificultar ou impedir a avaliação da mucosa, podem obstruir o canal de aspiração do equipamento e prejudicar a qualidade do exame (ZORAN, 2001).

1.6 Avaliação da integridade da mucosa gástrica

1.6.1 Avaliação macroscópica

As principais alterações que podem ser observadas na mucosa são edema, hiperemia, hiperqueratose da porção escamosa, erosões, úlceras, focos de hemorragia, tumorações, parasitas, exsudato, atrofia, friabilidade e exposição dos vasos da submucosa decorrente do adelgaçamento da mucosa (CORDEIRO et al., 2000).

A escala de LANZA (1990) atribui escores de zero a seis conforme a gravidade das lesões na mucosa gástrica, em que zero refere-se a nenhuma lesão visível; um, edema e hiperemia; dois, de um a dez erosões puntiformes ou hemorragia, três: de 11 a 20 erosões puntiformes ou hemorragia ou erosões lineares; quatro, > 20 erosões puntiformes ou hemorragia e 1-5 erosões invasivas; cinco, > 5 erosões invasivas ou erosões lineares invasivas; e seis, presença de úlcera.

MURRAY & EICHORN (1996) propuseram classificação da gravidade das lesões gástricas, pontuadas de forma crescente de zero a dez, com diferenciação para mucosa escamosa e glandular. MacALLISTER et al. (1997) propuseram um sistema baseado em duas pontuações diferentes, uma descrevendo o número de lesões e outra sua severidade. VATISTAS et al. (1999) capturaram e digitalizaram imagens videoendoscópicas e as

pontos de acordo com o grau e tamanho de

RZESZUTKO et al. (2006) classificaram a intensidade de lesões na mucosa gástrica de animais com sinais clínicos de origem gastrointestinal em ausente, discreta, moderada e distinta, e as compararam com a avaliação histológica, verificando que a escala aplicada, Escala de Sidney, amplamente empregada na medicina, pode ser utilizada para o exame gastrocópico de cães e gatos.

A escala de LANZA (1990) modificada foi empregada por COSTA et al. (2007) para avaliar a integridade da mucosa gatroduodenal após administração de nimesulida, monofenilbutazona e meloxicam por via oral em cães e posteriormente por BEHLE (2008) para avaliar a mucosa gástrica de cães da raça Poodle toy e sem raça definida submetidos a tratamento com meloxicam.

Em função dessa ausência de padrões de investigação, por muito tempo o diagnóstico e tratamento das afecções gastrointestinais dos animais de companhia não foram feitos a contento, pois a definição de diferentes critérios, por vários grupos, dificultava o estabelecimento de comparações entre trabalhos. Nesse sentido, em 2004, a Associação Mundial de Veterinários de Pequenos Animais (*World Small Animal Veterinary Association - WSAVA*) criou o Grupo de Padronização Gastrointestinal Internacional (*International Gastrointestinal Standardization Group - GI*) com o propósito de normatização dos exames clínico e laboratorial e tratamento de cães e gatos com doenças gastrointestinais (WASHABAU et al., 2010).

Desde então, os parâmetros utilizados para a avaliação endoscópica do estômago incluem distensibilidade, palidez, hiperemia, edema, friabilidade, hemorragia, erosão, úlcera, presença de conteúdo (muco, bile e alimento) e resistência a passagem pelo piloro, além das variáveis, nas regiões gástricas, fundo, corpo, incisura, antro e piloro. A classificação proposta inclui os graus zero (normal), um (discreto), dois (moderado) e três (acentuado). Avalia-se ainda a presença de corpo estranho, massas, pólipos e parasita, e quando realizada, informam-se as regiões em que foram realizadas as biopsias (WASHABAU et al., 2010).

Os parâmetros avaliados histologicamente em amostras de biopsia gástrica de cães e gatos seguem as recomendações do GI-WSAVA, e incluem, lesão epitelial, folículos linfoides, linfócitos intraepiteliais, infiltração de linfócitos, plasmócitos, eosinófilos e neutrófilos na lâmina própria, avaliados em lâminas coradas por HE e classificados em zero (normal), um (discreto), dois (moderado) e três (acentuado), de acordo com o grau de lesão tecidual e número de células no infiltrado (DAY et al., 2008).

Segundo DAY et al. (2008), o diagnóstico das doenças gastrointestinais em pequenos animais depende do sucesso nos estágios de obtenção dos fragmentos por endoscopia, processamento das pequenas e frágeis amostras em laboratório e eficiência na interpretação microscópica. Este último, o mais crítico, comprometido pelo número de amostras, quantidade de tecido, fragmentação e posicionamento da amostra no bloco durante o processamento (WILLARD, 2009).

1.6.3 Pesquisa de helicobactérias

Descoberto por WARREN & MARSHALL (1983 e 1984), *Helicobacter pylori* (HP) é o microrganismo padrão do gênero *Helicobacter* (HSP). É uma bactéria gram negativa, microaerófila, móvel, encurvada ou espiralada, em forma de U ou O, e com quatro a seis flagelos terminais, sendo oxidase positiva, catalase positiva, indol negativa, nitrato negativa e não fermentadora de glicose (LECOINDRE et al., 2000).

A maioria das espécies de *Helicobacter* encontradas no estômago de cães e gatos são maiores que HP (1,5-3 μm) (NEIGER & SIMPSON, 2000). Grandes bactérias espiraladas (4-10 μm) encontradas no estômago de cães inicialmente foram chamadas de *Gastrospirillum hominis*, e posteriormente classificadas como *Helicobacter heilmannii* (HH) (EATON et al., 1996). Outras grandes bactérias espiraladas identificadas no estômago do gato, como *Helicobacter felis*, *Helicobacter bizzozeronii* e *Helicobacter salomonis* são, à microscopia ótica, indistinguíveis de HH (HANNINEN et al., 1998). Por isso,

le HH para as espécies que ocorrem em cães da ocorrência de várias espécies no mesmo animal (STRAUSS-AYALI et al., 2001).

TAKEMURA et al. (2007) avaliaram dois grupos de cães distintos pelo grau de higidez. No que apresentava sinais clínicos de gastropatia observaram 64,3% de alterações macroscópicas na mucosa gástrica e 64,3% de positividade para HSP, enquanto no grupo de saudáveis esses índices foram de 52,2% e 87,0%, respectivamente, demonstrando ausência de correlação entre infecção da mucosa gástrica por helicobactérias e a presença de alterações gástricas. Segundo MOUTINHO (2007), que encontrou resultado semelhante ao avaliar a mucosa gástrica de cães saudáveis, até então esta correlação só havia sido relatada em animais infectados experimentalmente com HP e mediante utilização de cepas dotadas de virulência potencializada.

Segundo BAH et al. (1995), para predizer uma gastrite por HP à endoscopia é necessária a identificação de textura heterogênea na superfície antral, superfície rugosa no corpo ou erosões esbranquiçadas no antro. A baixa especificidade dessas observações impossibilita a identificação da bactéria na mucosa gástrica por meio de observação direta, via endoscopia, sendo necessária a realização exames específicos.

Vários métodos podem ser utilizados para a detecção de *Helicobacter spp*, classificados em invasivos e não invasivos. Os invasivos visam a identificação da bactéria em fragmentos da mucosa gástrica obtidos por meio de biopsias endoscópicas ou peças cirúrgicas, como o teste rápido de urease, cultura bacteriana, citologia e histologia, e os métodos não invasivos, realizados quando da impossibilidade do exame endoscópico, incluem detecção de anticorpos anti-*Helicobacter sp* no soro, suco gástrico, saliva, urina, cultura das fezes e teste respiratório com uréia marcada no carbono 13 ou 14 (CUTLER et al., 1995; BRESLIN & OLMORAIN, 1997; CARVALHAES et al., 2006).

O teste rápido de urease baseia-se na atividade da urease produzida pela bactéria. A enzima converte a uréia do teste reagente em CO₂ e amônia provocando aumento do pH, revelado pelo indicador fenolftaleína. A velocidade da viragem de cor é proporcional ao número de micro-organismos presente na amostra, em que quanto maior o número de bactérias presente mais rápido ocorre a viragem. No entanto, o resultado final só deve ser emitido em 24

A sensibilidade do teste é de 80-95% e a (HAPPONEN et al., 1998).

Ocasionalmente observam-se resultados falso-positivos quando da contaminação por bactérias comensais do intestino e/ou orofaringe, porém, em geral são rapidamente desnaturadas no pH ácido do estômago e raramente interferem no teste (CARVALHAES et al., 2006). Falso-negativos podem ocorrer em pacientes com hemorragia digestiva, em uso de inibidores da bomba de prótons, após tratamento com antibióticos e também em função da ampla distribuição da bactéria associada a baixa densidade de colonização, calcula-se que sejam necessários no mínimo 10⁴ micro-organismos para tornar o teste positivo (FLATLAND, 2002; MEGRAUD, 2003).

A cultura da bactéria em biopsias é a prova definitiva da colonização e infecção. No entanto, em função do maior tempo para a obtenção do resultado é recomendada especialmente após falha na terapia inicial devido a possibilidade de realização do antibiograma (CARVALHAES et al., 2006). Em pequenos animais esta técnica praticamente não é utilizada. Do grupo HH, para algumas espécies não se tem sucesso na cultura e outras crescem tanto na presença quanto ausência de sinais clínicos (HAPPONEN et al., 1998).

O material colhido por meio de biopsias deve ser transportado rapidamente ao laboratório à temperatura de 4°C em frascos contendo meio especial de anaerobiose. As amostras são semeadas em meio de cultura apropriado, que no Brasil geralmente é o BHM (Belo Horizonte *medium*). As colônias demoram em média quatro dias para crescer. Por definição, a especificidade da cultura é de 100%, mas a sensibilidade varia muito, estando em geral menor que 70%, pois depende da experiência do técnico do laboratório (CARVALHAES et al., 2006).

Apesar de pouco divulgada, a citologia do escovado gástrico é uma técnica prática, acessível, rápida e pouco agressiva de se avaliar a mucosa do estômago (CONRAD et al., 2012). O escovado gástrico é realizado após o término do exame endoscópico e da colheita dos fragmentos para exame histológico. Com o tubo de inserção devidamente posicionado e a escova guardada no interior do cateter de teflon, toda a extensão da pinça é passada para dentro do canal de biopsia. Pela extremidade distal é feita a exposição da escova, que suavemente é arrastada contra a parede do antro até o fundo do

a maior, evitando-se áreas hemorrágicas. A
r do cateter, a pinça retirada do endoscópio, a
escova é exposta novamente e friccionada em lâmina de vidro, que deve ser
secada, fixada a base de álcool e encaminhada para o laboratório. O método de
coloração utilizado de rotina é o Giemsa. A avaliação da lâmina é feita por
microscopia óptica. Devem-ser avaliados, no mínimo, dez campos em objetiva
de 100x, sob imersão, em duas lâminas, para que o resultado seja emitido
(HAPPONEN et al., 1996).

A escovação da mucosa traz muco e células epiteliais de uma área
bem extensa, o que aumenta as chances de identificação da bactéria, por isso
é mais sensível que o teste de urease e que o exame histológico (HAPPONEN
et al., 1998).

A histologia permite, além da identificação do agente que
habitualmente coloniza o muco, porção superior das criptas, epitélio de
revestimento e células parietais, a investigação da arquitetura da mucosa do
estômago, com possibilidade de observação de infiltrado inflamatório e atrofia
das glândulas gástricas, contribuindo para a conclusão do diagnóstico
(CARVALHAES et al., 2006).

Para o exame histológico recomenda-se a obtenção de múltiplos
fragmentos de cada região, pois em função da ampla distribuição das bactérias
na mucosa o exame de amostras provenientes de múltiplos sítios melhora a
sensibilidade do teste (LECOINDRE et al., 2000). Em pequenos animais o micro-
organismo tem sido identificado com maior frequência no corpo e fundo gástricos
que no antro e piloro, como em humanos (SCANZIANI et al., 2001).

A sensibilidade da histologia é de 90% a 95% podendo variar com
o observador e coloração utilizada e a especificidade é de 95% a 98%, pois as
características morfológicas da bactéria e sua típica localização na superfície
luminar da célula epitelial facilitam a diferenciação de outras raras bactérias
intragástricas (CARVALHAES et al., 2006).

Segundo DeMARTEL et al (2010), o exame histológico de cinco
fragmentos de biópsia, corados por HE e/ou GIEMSA, é uma ferramenta
acurada para a detecção de HP, comparado ao PCR de uma única amostra.

STRAUSS-AYALI et al. (2001) recomendaram para a identificação
de helicobactérias a utilização de métodos especiais, como a impregnação pela

do ou carbol-fucsina. De acordo com GENTA combina as colorações de HE e *alcian blue*

permite a identificação simultânea de bactérias e o estudo da morfologia da mucosa gástrica.

Em pesquisa de HP no estômago por meio de histologia corada por azul de metileno e Giemsa, TRAKARNVANICH (2007) verificou concordância de 98,3% entre as técnicas, no entanto, por se tratar de técnica mais simples, barata, rápida e disponível, recomendam a utilização de Giemsa na rotina.

Ao comparar a histologia corada por azul de toluidina (AT) e HE, WRIGHT & KELLY (2006) verificaram que dos 71,1% negativos ao HE nenhum foi positivo em AT, e dos 8,3% positivos em HE 96% confirmaram o mesmo resultado em AT e, por isso, julgam desnecessária a utilização de coloração especial em exames de rotina para pesquisa de HP.

PRACHASILPCHAI et al. (2007) verificaram prevalência de *Helicobacter* spp no estômago de cães submetidos a necropsia de 17,3%, 46,7%, 30,7% e 10,7% para histologia por HE, Warthin-Starry (WS), imunohistoquímica (IHC) e PCR, respectivamente. Não houve correlação entre a presença da bactéria, identificada pelas diferentes técnicas, e doença gástrica, nem diferença entre PCR, WS e IHC, o que foi atribuído a qualidade do espécime de biopsia. A identificação por WS se mostrou mais sensível que por HE ($p < 0,001$).

A ampla contribuição da técnica de endoscopia, seja aplicada como recurso complementar que avalia de forma direta as características da mucosa ou que possibilita a obtenção de espécimes teciduais para posterior complementação da investigação em nível laboratorial, será explorada nos capítulos a seguir para a avaliação da integridade da mucosa gástrica após administração via oral de tetracloreto de carbono e para comparar técnicas de pesquisa de bactérias do gênero *Helicobacter* no estômago de cães.

1. AZEVEDO, M. P. Sedação e anestesia em endoscopia digestiva. In: CAVALCANTI, I. L.; CANTINHO, F. A. F.; ASSAD, A. **Medicina perioperatória**. Rio de Janeiro: Saerj, 2006. cap. 81, p.709-724.
2. BAH, A.; SARAGA, E.; ARMSTRONG, D.; VOUILLAMOZ, D.; DUROUX, P.; WEBER, B.; FROEHLICH, F.; BLUM, A. L.; SCHNEGG, J. F. Endoscopic features of *Helicobacter pylori*-related gastritis. **Endoscopy**, Stuttgart, v. 27, n. 8, p. 593-596, 1995.
3. BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2.ed. São Paulo: Editora Manole, 1998. 629 p.
4. BEHLE, L. **Avaliação videoendoscópica e histológica da mucosa gástrica de cães da raça Poodle Toy e sem raça definida submetidos ao tratamento experimental com meloxicam**. 2008. 76 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) . Escola de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
5. BLENDIS, L.; WONG, F. Is there a cirrhotic cardiomyopathy? *The American Journal of Gastroenterology*, New York, v. 95, n. 1, p. 3026-28, 2000.
6. BRESLIN, N. P, OLMORAIN, C. A. Noninvasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a review. **Helicobacter**, Oxford, v. 2, n. 3, p. 111-117, 1997.
7. CARVALHAES, A.; MAGUILNIK, I.; EISIG, J.N.; ZATERKA, S. Núcleo Brasileiro para o estudo do *Helicobacter pylori*. **Helicobacter pylori presente - passado - futuro**. São Paulo: Atha Comunicação e Editora, 2006.
8. COELHO, L. G. V. Gastrites. In: DANI, R. **Gastroenterologia essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. cap.17, p. 137-148.
9. CONRAD, R.; CASTELINO-PRABHU, S.; COBB, C.; RAZA, A. Role of cytopathology in the diagnosis and management of gastrointestinal tract cancers. **Journal of Gastrointestinal Oncology**, Hong Kong, v. 3, n. 3, p. 285-298, 2012.

LÃES, A. F. N.; PROLLA, J. S; QUILICI, F. A.
Sociedade Brasileira de Endoscopia

Digestiva. 3. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2000. 713 p.

11. COSTA, P. R. S.; ARAÚJO, R. B.; COSTA, M. C.; MAIA, R. E. N. Endoscopia gastroduodenal após administração de nimesulida, monofenilbutazona e meloxicam em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 903-909, 2007.
12. CREMONESE, R.; PEREIRA-FILHO, A.; MAGALHÃES, R.; MATTOS, A.; MARRONI, C.; ZETTLER, C. Cirrose experimental induzida pela inalação de tetracloreto de carbono: adaptação da técnica e avaliação da peroxidação lipídica. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 40-47, 2001.
13. CUTLER, A. F.; HAVSTAD, S.; MA, C. K.; BLASER, M. J.; PEREZ-PEREZ, G. I.; SCHUBERT, T. T. Accuracy of invasive and noninvasive tests do diagnose *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 109, n. 1, p. 109-136, 1995.
14. DAY, M. J.; BILZER, T.; MANSELL, J.; WILCOCK, B.; HALL, E. J.; JERGENSK, A.; MINAMI, T.; WILLARD, M.; WASHABAU, R. Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the world small animal veterinary association gastrointestinal standardization group. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 138, n. 1, p. 1-43, 2008.
15. DeMARTEL, C.; PLUMMER, M.; VAN DOOM, L. J.; VIVAS, J.; LOPEZ, G.; CARILLO, E.; PERAZA, S.; MUNHOZ, N.; FRANCESCHI, S. Comparison of polymerase chain reaction and histopathology for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies. **International Journal of Cancer**, NewYork, v. 126, n. 8, p. 1992-1996, 2010.
16. DENNIS, J. S.; KRUGER, J. M.; MULLANEY, T. P. Lymphocytic/plasmacytic gastroenteritis in cats: 14 cases (1985-1990). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v. 200, n. 11, p. 1712-1718, 1992.

- ATO, A. Upper and lower gastrointestinal medical examiner's perspective. **Forensic Science, Medicine, and Pathology**, Totowa, v. 8, n. 1, p. 4-12, 2012.
18. DOHERTY, R. E. A history of the production and use of carbon tetrachloride, tetrachloroethylene, trichloroethylene and 1,1,1-trichloroethane in the united states: part 1--historical background; carbon tetrachloride and tetrachloroethylene. **Environmental Forensics**, New York, v. 1, n. 1, p. 69-81, 2000.
19. DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 942p.
20. EATON, K. A.; DEWHIRST, F. E.; PASTER, B. J.; TZELLAS, N.; COLEMAN, B. E.; PAOLA, J. SHERDING, R. Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 34, n. 12, p. 3165-3170, 1996.
21. FARIAS-SILVA, E.; COLA, M.; CALVO, T. R.; BARBASTEFANO, B.; FERREIRA, A. L.; DE APULA MICHELATTO, D.; ALVES DE ALMEIDA, A. C.; HIRUMA-LIMA, C. A.; VILEGAS, W.; BRITO, A. R. Antioxidant activity of indigo and its preventive effect against ethanol-induced DNA damage in rat gastric mucosa. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 73, n. 12, p. 1241-46, 2007.
22. FERREIRA, F. M. **Aspectos morfológicos avaliados por histopatologia e tomografia computadorizada do fígado de cães intoxicados experimentalmente pelo CCl₄**. 1998. 70 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) . Escola de Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
23. FLATLAND, B. *Helicobacter* infection in humans and animals. **Compendium**, Yardley, v. 24, n. 1, p. 688. 698, 2002.
24. GENTA, R. M.; ROBASON, G. O.; GRAHAM, D. Y. Simultaneous visualization of *Helicobacter pylori* and gastric morphology: a new stain. **Human Pathology**, Philadelphia, v. 25, n. 3, p. 221-226, 1994.

- Medical therapy for gastrointestinal ulceration
- , P. The transmission of *Helicobacter pylori*. A critical review of the evidence. **International Journal of Epidemiology**, London, v. 24, n. 5, p. 875-887, 1995.
26. GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5.ed. v.2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 2000p.
 27. GUALTIERI M: Esophagoscopy. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 31, n. 4, p. 605-30, 2001.
 28. GUILFORD, W. G. Upper gastrointestinal endoscopy. In: McCARTHY, T. C. **Veterinary endoscopy for the small animal practitioner**. New York: Elsevier, 2005. cap. 4, p. 279-321.
 29. GUILFORD, W. G.; CENTER, S. A.; STROMBECK, D. R.; WILLIAMS, D. A.; MEYER, D. **Small animal gastroenterology**, 3.ed., Philadelphia: WB Saunders, 1996, 978 p.
 30. GUÍMARO, J. O. M. **Doença inflamatória crônica do intestino: estudo comparativo entre a imagem endoscópica e o resultado histopatológico em 73 cães**. 2010.125f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
 31. HANNINEN, M.; HAPPONEN, I.; JALAVA, K. Transmission of canine gastric *Helicobacter salomonis* infection from dam to offspring and between puppies. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 62, n. 1, p. 47-58, 1998.
 32. HAPPONEN, I.; SAARI, S.; CASTREN, L.; TYNI, O.; HÄNNINEN, M. L.; WESTERMARCK, E. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organisms in dogs and cats. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 115, n. 2, p. 117-127, 1996.
 33. HAPPONEN, I.; LINDEN, J.; SAARI S. KARJALAINEN, M.; HÄNNINEN, M. L.; JALAVA, K.; WESTERMARCK, E. Detections and effects of helicobacters in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. **Journal of**

34. JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 798p.
35. KLUG, W. A.; NETO, P. S.; FONOFF, A. M.; FANG, C. B.; CANDELARIA, P. A.; CAPELHUCHNIK, P. Preparo do intestino para colonoscopia com lactulona a 8%: modo da Santa Casa de São Paulo. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 84-88, 2008.
36. LANZA, F. L.; GRAHAM, D. Y.; DAVIS, R. E.; RACK, M. F. Endoscopic comparison of cimetidine and sucralfate for prevention of naproxen-induced acute gastroduodenal injury-effect of scarring method. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v. 35, n. 12, p. 1494-1499, 1990.
37. LECOINDRE, P.; CHEVALLIER, M.; PEYROL, S.; BOUDE, M.; FERRERO, R. L.; LABIGNE, A. Gastric helicobacters in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, London, v. 2, n. 1, p. 19-27, 2000.
38. LI, X.; BENJAMIN, I. S.; ALEXANDER, B. Reproducible production of thiocetamide-induced macronodular cirrhosis in the rat with no mortality. **Journal of Hepato-Biliary Pancreatic Surgery**, Tokio, v. 36, n. 4, p. 488-493, 2002.
39. MacALLISTER, C. G.; ANDREWS, F. M.; DEEGAN, E.; RUOFF, W.; OLOVSON, S. G. A scoring system for gastric ulcers in the horse. **Equine Veterinary Journal**, Newmarket, v. 29, n. 6, p. 430-433, 1997.
40. MÉGRAUD, F. When and how does *Helicobacter pylori* infection occur? **Gastroentérologie Clinique et Biologique**, New York v. 27, n. 2, p. 374-379, 2003.
41. MOUTINHO, F. Q.; THOMASSIAN, A.; WATANABE, M. J.; SUZANO, S. M. C. SEQUEIRA, J. L. Prevalência de helicobactérias e alterações na mucosa gástrica de cães saudáveis **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 1080-1083, 2007.

- E. S. Effects of intermittent feed deprivation and stall confinement with ad libitum access to hay on gastric ulcerations in horses. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 57, n. 11, p. 1599-1603, 1996.
43. NEIGER, R.; SIMPSON, K. W. Helicobacter infection in dogs and cats: facts and fiction. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 14, n. 1, p. 125-33, 2000.
44. ODABASI, M. Halogenated volatile organic compounds from the use of chlorine-bleach-containing household products. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 42, n. 5, p. 1445. 1451, 2008.
45. PAPAZIAN, A.; BRAILLON, A.; DUPAS, J. L.; SEVENET, F.; CAPRON, J. P. Portal hypertensive gastric mucosa: an endoscopy estudy. **Gut**, London, v. 27, n. 10, p. 1199-203, 1986.
46. PRACHASILPCHAI, W.; NUANUALSUWAN, S.; CHATSUWAN, T.; TECHANGAMSUWAN, S.; WANGNAITHAM, S.; SAILASUTA, A. Diagnosis of Helicobacter spp. infection in canine stomach. **Journal of Veterinary Science**, Suwon, v. 8, n. 2, p. 139-145, 2007.
47. RICHTER K. P. Laparoscopy in dogs and cats. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 31, n. 4, p. 707-727, 2001.
48. RUBESIN, S. E.; FURTH, E. E.; LEVINE, M. S. Gastritis from NSAIDS to Helicobacter pylori. **Abdominal Imaging**, New York, v. 30, n. 2, p. 142-159, 2005.
49. RZESZUTKO, M.; KUBIAK, K.; RZESZUTKO, W.; NICPO, J.; JANKOWSKI, M.; DUBI SKA, A. Evaluating gastric mucosa inflammation in dogs and cats according to the Sydney System. **Medycyna Weterynaryjna**, Warszawa, v. 62, n. 5, p. 536-538, 2006.
50. SAMUELSON, D. A. **Tratado de histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 856p.

C. **Patologia veterinária.** São Paulo: Rocca,

52. SCANZIANI, E.; SIMPSON, K.; MONESTIROLI, S.; SOLDATI, S.; STRAUSS-AYALI, D.; DEL PIERO, F. Histological and immunohistochemical detection of different *Helicobacter* species in the gastric mucosa of cats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 13, n. 1, p. 3-12, 2001.
53. SHERDING, R. G.; JOHNSON, S. E.; TAMS, T. R. Esophagoscopy. In: TAMS, T. R. **Small animal endoscopy**. St. Louis: Mosby, cap. 4., p. 39-96, 1999 Cited In: BEHLE, L. **Avaliação videoendoscópica e histológica da mucosa gástrica de cães da raça Poodle Toy e sem raça definida submetidos ao tratamento experimental com meloxicam**. 2008. 76f. Dissertação. (Mestrado em Medicina Veterinária) . Escola de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
54. SILVA, E. C. S.; PINA, F. L. S.; TEIXEIRA, M. W. Diagnóstico e tratamento da estenose esofágica pela via endoscópica em cão: relato de caso. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 465-470, 2010.
55. SIPE, B. W.; REX, D. K.; LATINOVICH, D.; OVERLEY, C.; KINSER, K.; BRATCHER, L.; KAREKEN, D. Propofol versus midazolam/meperidine for outpatients colonoscopy: administration by nurses supervised by endoscopists. **Gastrointestinal Endoscopy**, Denver, v. 55, n. 7, p. 815-825, 2002.
56. SOLL, A. H. Gastric, duodenal and stress ulcer. In: FELDMEN, M.; FRIEDMAN, L. S.; SLEIGENSER, M. S. **Sleigenser & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease**. 7.ed. Philadelphia: W B Saunders, 2002. cap. 4, p. 580-679.
57. SPECHLER, S. J. Peptic ulcer disease and its complications. In: FELDMEN, M.; FRIEDMAN, L. S.; SLEIGENSER, M. S. **Sleigenser & Fordtran's gastrointestinal and liver disease**. 7.ed. Philadelphia: W B Saunders, 2002. cap. 6, p. 747-741.
58. SPIRT, M. J. Stress-related mucosal disease: risk factors and prophylactic therapy. **Clinical Therapeutics**, Princeton, v. 26, n. 2, p. 197-213, 2004.

- NZIANI, E.; DENG, D.; SIMPSON, K. W. cats: Evaluation of humoral immune response and prevalence of gastric *Helicobacter* spp. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 79, n. 3, p. 253-265, 2001.
60. TAKEMURA, L. S.; AMUDE, A. M.; CAMARGO, P. L.; BRACARENSE, A. P. F. R. L. Detecção e efeitos de *Helicobacter* spp. em cães saudáveis e com sinais de gastrite. **Acta Scientiae Veterinariae**, [online] v. 35, n. 2, p. 480-481, 2007. Disponível em: http://www.sumarios.org/sites/default/files/pdfs/50386_5936.PDF. Acesso em: 10 fev. 2012.
61. TAMS, T. R. **Gastroenterologia de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2005. 454 p.
62. TEIXEIRA, M. W.; ALMEIDA, E. L.; COSTA, P. R. S.; SILVA, E. C. SÁ, M. J. C. **Utilização da endoscopia no diagnóstico e tratamento da obstrução esofágica em cães. É relato de oito casos**. 2010. Disponível em: <http://www.veterinariaharmonia.com.br/utilizacao-da-endoscopia-no-diagnostico-e-tratamento-da-obstrucao-esofagica-em-caes.php>. Acesso em 10 fev. 2012.
63. THULUVATH, P. J.; YOON, H. Y. Portal hypertensive gastropathy. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 97, n. 12, p. 2973-78, 2003.
64. TOYONAGA, A.; IWAO, T. Portal hypertensive gastropathy. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Melbourne, v. 13, n. 99, p. 865-77, 1998.
65. TRAKARNVANICH, V. Methylene blue staining of gastric tissue for the identification of *Helicobacter pylori*. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 38, n. 1, p. 78-81, 2007.
66. VATISTAS, N. J.; SNYDER, J. R.; CARLSON, G.; JOHNSON, B.; ARTHUR, R. M.; THURMOND, M.; ZHOU, H.; LLOYD, K. L. K. Cross-sectional study of gastric ulcers of the squamous mucosa in

67. WALLACE, J. L.; MA, L. I. Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury. **Experimental biology and medicine**, Maywood, v. 226, n. 11, p.1003-15, 2001.
68. WARREN, J. R.; MARSHALL, B. J. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. **Lancet**, London, v. 321, n. 8336, p. 1273-1275, 1983.
69. WARREN, J.R.; MARSHALL, B. J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. **Lancet**, London, v. 1, p. 1311- 1315, 1984.
70. WASHABAU, R. J.; DAY, M. J.; WILLARD, M. D.; HALL, E. J.; JERGENS, A. E.; MANSELL, J.; MINAMI, T.; BILZER, T. W. Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 24, n. 1, p. 10-26, 2010.
71. WILLARD, M. D. Desordens do sistema digestivo. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 4.ed. São Paulo Rocca, 2009. Cap.7, p.351-476.
72. WILLARD, M. D.; JERGENS, A. E.; DUNCAN, R. B.; LEIB, M. S.; McCracken, M. D.; DeNOVO, R.; HELMAN, R. G.; SLATER, M. R.; HARBISON, J. L. Interobserver variation among histopathologic evaluations of intestinal tissues from dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 220, n. 8, p. 1177-1182, 2002.
73. WRIGHT, C. L.; KELLY, J. K. The use of routine special stains for upper gastrointestinal biopsies. **The American Journal of Surgical Pathology**, New York, v. 30, n. 3, p. 357-361, 2006.
74. YAMASAKI, K.; SUEMATSU, H.; TAKAHASHI, T. Comparison of gastric lesions in dogs and cats with and without gastric spiral organisms. **Journal**

Medical Association. Shaumburg, v. 212, n.

75. YONGPING, M.; PING, L.; GUANGLI, D.; JINXING, D.; GAOQIANG, W.; AIHUA L.; LEI, W.; FENGHUA, L. Action mechanism of Yi Guan Jian Decoction on CCl₄ induced cirrhosis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 121, n. 1, p. 35-42, 2009.
76. ZORAN, D. L. Gastroduodenoscopy in the dog and cat. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 31, n. 3, p. 631-56, 2001.

DE CARBONO

Resumo

As gastropatias secundárias a insuficiência hepática apresentam patogênese de caráter multifatorial, destacando-se as alterações do fluxo sanguíneo na mucosa do órgão. Este trabalho teve por objetivo avaliar os aspectos gastroscópicos e histológicos da mucosa do estômago de cães intoxicados experimentalmente com tetracloreto de carbono (CCl_4) por via oral e verificar a distribuição de possíveis alterações histológicas entre as regiões do antro, corpo e fundo gástricos. Foram utilizados 24 cães machos adultos. No momento zero (M0) obteve-se os valores basais de cada unidade experimental. No dia seguinte cada animal recebeu em dose única 2,5ml/kg de CCl_4 . As avaliações subseqüentes ocorreram 24 horas (Momento1) e sete dias (Momento 2) após a administração do tóxico. No dia seguinte à administração de CCl_4 constatou-se hiperemia ($p=0,001$) e hemorragia ($p=0,018$) à gastroscopia e, à histologia, edema, hiperemia e hemorragia. Sete dias após a intoxicação não foram observadas alterações na mucosa. Conclui-se que a administração de CCl_4 por via oral aos cães causa alterações circulatórias difusas na mucosa gástrica secundárias a hepatite tóxica.

Palavras-chave: biopsia, endoscopia, hepatite.

Abstract

The gastropathies resultant to liver failure present multifactorial pathogenesis, mainly blood flow changes in the organ's mucosa. This study aimed to evaluate the gastroscopic and histological aspects of the stomach mucosa of dogs experimentally intoxicated orally with carbon tetrachloride (CCl₄) and verify the distribution of possible histological changes among regions of the gastric antrum, body and fundus. We used 24 adult male dogs. At the time zero (T₀) baseline values were taken of each experimental unit. The following day, each animal received a single dose of 2.5 ml / kg of CCl₄. The subsequent assessments occurred 24 hours (Moment 1) and seven days (Moment 2) after toxic administration. In the following day of CCl₄ administration was observed hyperemia (p=0,001) and bleeding (p=0.018) through gastroscopy and, through histology, edema, hyperemia and hemorrhage. Seven days after intoxication no mucosal changes were observed. It is concluded that oral administration of CCl₄ to dogs cause diffuse circulatory changes in the gastric mucosa secondary to toxic hepatitis.

Keywords: biopsy, endoscopy, hepatitis.

As afecções do sistema digestivo frequentemente desencadeiam graves repercussões, haja vista sua função primordial de extrair dos alimentos os nutrientes, disponibilizando-os para serem utilizados em todas as funções orgânicas (DUKES, 2007). Dada essa importância, justifica-se o estudo de toda causa que possa comprometer a higidez deste sistema, seja de forma primária por ácidos, cáusticos, drogas, micro-organismos, endoparasitas e neoplasias ou secundária à insuficiência renal e hepática (TARIQ & MOUTAERY, 2005).

Entre os diversos agentes causadores de doença hepática encontra-se o tetracloreto de carbono, substância empregada principalmente como indutor de lesão hepática para investigação científica de fármacos com potencial hepatoprotetor (ODABASI, 2008). Seus principais efeitos tóxicos se devem aos produtos do seu metabolismo, especialmente os radicais livres, que por peroxidação dos fosfolípidios destroem membranas celulares e organelas (BASU, 2003; RAO et al., 2006).

A patogênese das gastrites que se desenvolvem na insuficiência hepática é de origem multifatorial, inclui aumento da secreção ácida gástrica por diminuição da degradação hepática de gastrina e histamina e alteração do fluxo sanguíneo na mucosa (GUILFORD, 2005). A inflamação, fibrose e necrose do parênquima hepático doente levam à resistência à passagem do fluxo sanguíneo e conseqüente formação de vasos colaterais, chamados colaterais portossistêmicos, que desviam sangue do fígado diretamente para circulação sistêmica, o que é definido como síndrome da hipertensão portal [SHP] (FARIAS-SILVA et al., 2007).

Segundo ABRALDES & BOSCH (2002), a SHP é um estado anormal caracterizado por aumento e manutenção patológicos (de 1 a 5 mmHg acima do valor normal) da pressão no sistema-porta associado a obstrução ao fluxo sanguíneo portal. Nestas condições verifica-se o desenvolvimento da circulação hiperdinâmica, caracterizada por estase sanguínea nos vasos esplâncnicos e hipotensão sistêmica por diminuição da resistência vascular periférica em função do acúmulo na circulação de substâncias vasodilatadoras

óxido nítrico e endotelinas (IWAKIRI et al.,

Em pacientes porta-hipertensos relatam-se como principais síndromes a gastropatia portal hipertensiva, encefalopatia hepática, síndrome hepatorenal, peritonite bacteriana espontânea e cardiomiopatia cirrótica, disfunção cardíaca resultante da diminuição da resistência vascular periférica e distribuição sanguínea anormal ocasionada pela vasodilatação esplâncnica (BLENDIS & WONG, 2000).

Apesar do amplo conhecimento acerca dos efeitos deletérios do CCl_4 sobre o fígado, motivo pelo qual é empregado em modelos experimentais de indução de lesão hepática, pouco se conhece sobre as consequências do seu contato direto com a mucosa gástrica, inclusive em humanos, bem como sobre possíveis repercussões da insuficiência hepática aguda no estômago de cães. Neste sentido os objetivos deste trabalho foram avaliar os aspectos macroscópicos, por gastroscopia, e microscópicos, por meio de exame histológico, da mucosa gástrica de cães intoxicados experimentalmente com tetracloreto de carbono.

Material e métodos

Animais

As atividades experimentais foram realizadas nas dependências da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, obedecendo aos preceitos éticos em experimentação animal normatizados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL), após aprovação pelo Comitê de Ética na Experimentação em Animais da Pró-Reitoria de pesquisa e Pós-Graduação da referida Universidade, sob o protocolo de número 164/2009.

Foi utilizada amostra de conveniência de 24 cães machos adultos mestiços, com peso médio de $15 \pm 6,2$ kg. Por um período de três meses os cães foram alojados em baias individuais e alimentados com ração balanceada para cães adultos, além de receberam água à *ad libitum*. Durante este período foram submetidos às medidas profiláticas de desverminação, vacinação,

gidez testada por meio de exames clínicos e se, exames parasitológicos e bioquímicos. Ao

final do estudo os animais foram encaminhados para adoção.

Delineamento experimental e tratamento

Constatada a higidez dos animais por meio de avaliação clínica e laboratorial, realizou-se os exames específicos para obtenção dos valores basais de cada unidade experimental (M0). No dia seguinte à avaliação basal, cada animal recebeu em dose única, via sonda orogástrica, 2,5ml de tetracloreto de carbono PA (Tetracloreto de carbono PA[®] - Vetec . Duque de Caxias - RJ) por quilograma de peso corporal. As avaliações subsequentes ocorreram 24 horas após a administração do fármaco (M1) e sete dias após (M2).

Para confirmar a presença de lesão hepática, nos três momentos foram realizadas avaliações bioquímicas, determinação da atividade sérica enzimática de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), gama glutamiltransferase (GGT); e quantificação de bilirrubina total, proteína total e albumina séricas. Para avaliar macro e microscopicamente o estômago realizou-se exame gastroscópico e histológico das regiões do antro, corpo e fundo gástricos. As avaliações foram realizadas nos três momentos. Além disso, dentro de cada momento, foi verificada a distribuição das lesões caracterizadas por histologia.

Avaliação bioquímica sérica

Para a realização dos exames, os animais cães eram mantidos em jejum de 12 horas. Foram obtidos 8,0mL de sangue por venopunção jugular, em tubos de vidro a vácuo siliconizados (Vacutainer[®] - Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda, Brasil), com tampa e sem anticoagulante, e agulha individual 25X7mm (Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda, Brasil). O sangue colhido foi centrifugado e, em seguida, aspirado, sendo dividido em alíquotas em microtubos de polipropileno de 1,5mL (Eppendorf[®], Alemanha). As amostras

ras após a colheita e por segurança, alíquotas
nto (- 20°C).

Foram utilizados reagentes comerciais padronizados (Labtest® - Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa . MG), com metodologias cinéticas, enzimáticas ou colorimétricas, em temperatura de 37°C, sendo a leitura realizada em espectrofotômetro semi-automático (Analisador Bioquímico Bio-Plus®, Produtos para Laboratórios Ltda, Barueri . SP). As reações foram realizadas de acordo com as orientações do fabricante

Os intervalos de referência das variáveis analisadas foram obtidas de KANEKO et al. (1997) e KERR (2003) e estão descritos no Quadro 1.

QUADRO 1 . Intervalos de referências das variáveis bioquímicas séricas

Variável	Intervalo	Unidades
ALT	22,7 . 85,1 ²	UI/L
ALP	8,5 . 60,6 ²	UI/L
AST	23 - 66 ²	UI/L
GGT	1,2 - 6,4 ¹	UI/L
Colesterol	135 - 270 ¹	mg/dL
Bilirrubina total	0,1 - 0,5 ¹	mg/dl
Proteína total	6,15 . 7,37 ¹	mg/dL
Albumina	2,1 - 3,08 ¹	mg/dL
Uréia	21 . 45 ¹	mg/dL

Fonte: ¹KANEKO et al. (1997), ²KERR (2003)

Gastroscoopia

Os cães foram submetidos a jejum prévio de 24 horas. A pré anestesia foi realizada com 0,15 mg/kg de midazolam (Dormonid® - Roche . Jaguaré . SP), a indução anestésica com 5,0 mg/kg de propofol (Profolen® - Blausiegel . Cotia - SP) e a manutenção com isoflurano a 2,5% (Isoflurane® - Cristália . Itapira . SP). Durante o procedimento os animais tiveram as frequências cardíaca e respiratória, traçado eletrocardiográfico e saturação de

emente por meio do monitor Inmaxvet®

Sob anestesia geral, os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo com cabeça e pescoço estendidos e a boca mantida aberta por abridor de bocas. Precedendo à introdução do endoscópio, o tubo de inserção foi lubrificado com uma fina camada de gel de lidocaína a 2% (Lidogel® - Neo Química . Anápolis - GO). Os equipamentos utilizados foram fibrogastoscópio (FG 29v® - Pentax . China) com um metro de comprimento por 9,8 mm de diâmetro, com canal de sucção e biopsia de 2,8 mm acoplado a aspirador cirúrgico (Aspira Max® - NS Industrial . São Paulo - SP), insuflador e fonte de luz halógena de 250 watts (Ferrari Medical® - São Paulo - SP) e pinça de biopsia fenestrada oval curta de 2,3 mm com agulha (Ferrari Medical® - São Paulo - SP).

No início do exame, o endoscópio foi direcionado ao longo da orofaringe e guiado dorsalmente ao tubo endotraqueal. Após passagem pelo esfíncter esofágico percorreu-se o esôfago insuflado até a transposição do cárdia e entrada no estômago. Realizou-se insuflação para visualização do corpo do estômago e deslizou-se o equipamento ao longo da curvatura maior até o antro e piloro, procedeu-se a manobra de retroflexão para a observação do cárdia, curvatura menor e fundo gástrico. As manobras seguiram as instruções de SHERDING et al. (1999) e CORDEIRO et al. (2000).

Os fragmentos foram colhidos sempre ao final do exame para evitar que o sangramento resultante da biopsia interferisse na avaliação da mucosa. Neste procedimento a pinça foi introduzida pelo canal de biopsia do endoscópio e exposta na cavidade gástrica, assim que aberta era empurrada contra a parede gástrica e em seguida fechada para apreender um fragmento da mucosa. Em ato contínuo, a pinça com a amostra foi recolhida passando novamente pelo canal de biopsia até serem exteriorizadas. Os procedimentos de colheita dos fragmentos foram realizados de acordo com SHERDING et al. (1999).

Com o auxílio de uma agulha, o fragmento foi removido da pinça de biopsia, distendido e revestido em papel absorvente para em seguida ser imerso em frasco contendo formalina tamponada a 10%. Após a realização das biopsias aspirava-se o ar insuflado no estômago e procedia-se a remoção do

a procedimento endoscópico a limpeza do foi efetuada com detergente enzimático (Encosime[®] - Lenzafarm . Belo Horizonte - MG) e a desinfecção com glutaraldeído a 2,4% (Glutaron[®] - Rio Química . São José do Rio Preto . SP) por trinta minutos, como recomendado por HOEFEL (2002).

Os parâmetros gastroscópicos (Quadro 2) foram aplicados a avaliação do órgão como um todo e classificados em escores que variaram de zero a três de acordo com a gravidade das lesões, seguindo as recomendações de WASHABAU et al. (2010).

QUADRO 2 - Parâmetros gastroscópicos avaliados por gravidade das lesões e escore de classificação

Parâmetros avaliados	Escore	Gravidade das lesões
distensibilidade, hiperemia, edema, friabilidade, palidez, hemorragia, erosão, úlcera, resistência pilórica e presença de conteúdo gástrico	0	ausentes
	1	discretas
	2	moderadas
	3	acentuadas

Fonte: WASHABAU et al. (2010)

Avaliação histológica

Os três fragmentos obtidos de cada região gástrica foram mantidos em formalina tamponada a 10% por 24 horas e depois em álcool 70% até o momento do processamento. Cortes histológicos de 5µm foram confeccionados utilizando micrótomo rotativo, em seguida foram distendidos sobre lâminas histológicas de extremidade fosca, corados com hematoxilina e eosina (HE), cobertos por resina sintética e lamínula histológica e ao final, avaliados em microscópio óptico em objetiva com aumento de 40x.

Os parâmetros histológicos avaliados em cada segmento gástrico (Quadro 3) foram classificados em escores que variaram de zero a três de acordo com a gravidade das lesões, seguindo as recomendações de DAY et al. (2008).

ológicos avaliados por gravidade das lesões e ação

Parâmetros avaliados	Escore	Gravidade das lesões
presença de lesão epitelial, atrofia, edema, hiperemia, hemorragia, folículos linfoides, linfócitos intraepiteliais e infiltração de linfócitos, plasmócitos, eosinófilos e neutrófilos na lâmina própria	0	ausentes
	1	discretas
	2	moderadas
	3	acentuadas

Fonte: Adaptado de DAY et al. (2008)

Análise estatística

Previamente a avaliação estatística os dados foram testados quanto a normalidade por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados quantitativos referentes a bioquímica sérica apresentaram distribuição normal e foram apresentados na forma de médias e desvios-padrão, comparados por meio do teste t para dados pareados. As variáveis qualitativas das avaliações gastroscópicas e histológicas, definidas em escores, foram descritas em tabelas na forma de frequência absoluta e mediana e comparadas por meio do teste de Wilcoxon. A distribuição das alterações histológicas entre as regiões gástricas em cada momento foi comparada por meio do teste de McNemar. Os testes estatísticos foram empregados seguindo as orientações de SAMPAIO (2007). O tratamento dos dados foi realizado com a utilização do programa computacional (Biostat 5.3[®] - Tefé - AM) para o Windows XP. Considerou-se o nível de significância de 5%.

Resultados

No dia seguinte à administração de tetracloreto de carbono verificou-se elevação ($p < 0,0001$) da atividade sérica de ALT, AST e ALP e da concentração de bilirrubina total, as quais mantiveram-se altas ($p < 0,0001$) até o sétimo dia de avaliação (Tabela 1). A atividade sérica da GGT se elevou

) seguida de tendência a retorno aos valores
maneja mais elevada na comparação com M0

($p=0,005$) e sem diferir do M1 ($p=0,081$).

A concentração de proteína total aumentou do M0 para o M2, entretanto, só a última mensuração foi significativa quando comparada com o M0 ($p<0,0001$). A síntese hepática de albumina não sofreu variação ($p>0,05$) na comparação entre os três momentos (Tabela 1).

TABELA 1 . Médias e desvios padrão (DP) da atividade sérica de ALT, AST, ALP, GGT e quantificação de bilirrubina total, proteína total e albumina em cães hípidos (Momento 0), 24 horas (Momento 1) e sete dias (Momento 2) após intoxicação por tetracloreto de carbono via oral

Teste Bioquímico	M0	M1	M2	valores de p*		
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	M0 vs M1	M1 vs M2	M0 vs M2
ALT (UI/L)	41,08 ± 11,37	311,23 ± 120,34	145,22 ± 46,88	<0,0001	<0,0001	<0,0001
AST (UI/L)	34,45 ± 11,62	192,96 ± 83,59	95,45 ± 39,42	<0,0001	<0,0001	<0,0001
ALP (UI/L)	25,52 ± 7,16	203,08 ± 84,73	78,95 ± 52,96	<0,0001	<0,0001	<0,0001
GGT (UI/L)	6,16 ± 0,79	10,2 ± 3,60	8,43 ± 3,56	<0,0001	0,081	0,0054
Bilirrubina total (mg/dl)	0,69 ± 0,13	1,01 ± 0,16	0,94 ± 0,15	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Proteína total (mg/dl)	6,54 ± 0,50	6,83 ± 0,81	7,23 ± 0,72	0,1496	0,0414	<0,0001
Albumina (mg/dl)	2,93 ± 0,27	2,85 ± 0,45	2,97 ± 0,38	0,3682	0,2547	0,6628

* Teste *t* para dados pareados, significância $p<0,05$

Na avaliação macroscópica da mucosa gástrica por meio de exame de endoscopia verificou-se que a distensibilidade apresentou-se diminuída em dois animais no M0, sem relação com o tratamento (Tabela 2). O tóxico comprometeu de forma discreta esta variável com elevação do escore de zero para 1 em 29,16% (7/24) dos animais ($p=0,139$), destes, 100% retornaram para

, quando apenas um outro animal passou a apresentando a diferir do M0 ($p=0,593$).

Após administração de CCl_4 verificou-se hiperemia em 62,5% (15/24) dos animais ($p=0,001$), sete com escore 1 e oito com escore 2. Dos quatro que apresentavam hiperemia com escore 1 no M0, três cães mantiveram a gravidade desta alteração e um desenvolveu a forma moderada, escore 2 no M1. Os quinze animais com a mucosa hiperêmica no M1 apresentaram menor classificação de escore no M2 ($p=0,003$), mesmo assim seis deles ainda manifestavam hiperemia no M2.

Verificou-se edema em dois animais antes de receberem o tóxico. Após a intoxicação 20,83% (5/24) dos cães desenvolveram esta alteração ($p=0,310$), todos com escore 1. Estes mesmos cinco animais retornaram a condição normal no M2 ($p=0,310$) quando dois outros passaram a apresentá-la, entretanto sem diferir do M0.

A friabilidade foi observada em apenas um animal após administração de CCl_4 ($p=0,317$), o qual retornou a condição normal no M2. No M1 a frequência de hemorragia foi de 29,16% (7/24), maior que no M0 ($p=0,018$). O escore 1 foi o mais frequente, 71,45% (5/7), somente dois animais apresentaram hemorragia moderada, escore 2. Sete dias após, no M2, os sete animais não mais apresentavam essa alteração macroscópica ($p=0,018$). No M0 e M2 não foi observado nenhum caso de hemorragia.

Em 86,11% (62/72) das observações verificou-se que o estômago estava vazio. A presença de conteúdo gástrico foi observada em dois animais no M0, ambos com quantidade discreta de alimento, escore 1, e após a administração do tóxico esse parâmetro foi observado em 25% (6/24) dos animais ($p=0,142$), dois com bile e quatro com alimento, todos com escore 1. No M2 apenas dois animais apresentavam conteúdo no estômago, representado por alimento, sem diferir do M0 e M1 ($p>0,05$).

Não foram observadas palidez, erosões, úlceras e resistência pilórica em nenhum animal nos três momentos avaliados.

Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features

as e mediana dos escores da distensibilidade, friabilidade, palidez, hemorragia, erosão, úlcera, resistência pilórica e conteúdo gástrico avaliados por endoscopia em cães hígidos (Momento 0), 24 horas (Momento 1) e sete dias (Momento 2) após intoxicação por tetracloreto de carbono via oral

		Distensibilidade			Hiperemia			Edema		
		M0	M1	M2	M0	M1	M2	M0	M1	M2
Escore	0	22	17	23	20	9	18	22	19	22
	1	2	7	1	4	7	5	2	5	2
	2	0	0	0	0	8	1	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mediana*		0	0	0	0	1	0	0	0	0
p**	M0 vs M1	0,139			0,001			0,310		
	M1 vs M2	0,059			0,003			0,310		
	M0 vs M2	0,593			0,374			1,000		
		Friabilidade			Palidez			Hemorragia		
Escore	0	24	23	24	24	24	24	24	17	24
	1	0	1	0	0	0	0	0	5	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mediana		0	0	0	0	0	0	0	0	0
p	M0 vs M1	0,317			1,000			0,018		
	M1 vs M2	0,317			1,000			0,018		
	M0 vs M2	0,180			1,000			1,000		
		Erosão / Úlcera			Resistência pilórica			Conteúdo gástrico		
Escore	0	24	24	24	24	24	24	22	18	22
	1	0	0	0	0	0	0	2	6	2
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mediana		0	0	0	0	0	0	0	0	0
p	M0 vs M1	1,000			1,000			0,142		
	M1 vs M2	1,000			1,000			0,207		
	M0 vs M2	1,000			1,000			1,000		

* Mediana dos escores de 0 a 3

**Teste de Wilcoxon, significância $p \leq 0,05$

Os resultados das avaliações histológicas estão apresentados na Tabela 3. Sete observações de edema (Figura 1C) foram constatadas antes da administração do tóxico (M0), distribuídas uniformemente nas regiões gástricas ($p > 0,05$), sendo três no antro, três no corpo e uma no fundo, todas escore 1. No M1 verificou-se edema em 62,5% (15/24) dos antros analisados ($p = 0,001$), doze apresentaram escore 1 e três o escore 2. No corpo gástrico, a incidência foi de 45,8% (11/24) ($p = 0,008$), oito com escore 1 e três com escore 2, e no fundo de 33,3% (8/24) ($p = 0,038$), todos com escore 1. Após o tratamento, o edema foi mais frequente no antro que no fundo do estômago ($p = 0,023$).

Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features

Escores e mediana da lesão epitelial, edema, hiperemia, hemorragia e infiltração de linfócitos e plasmócitos nas regiões do antro (A), corpo (C) e fundo (F) gástricos, avaliadas por histologia em cães (Momento 0), 24 horas (Momento 1) e sete dias (Momento 2) após intoxicação por tetracloreto de carbono via oral

Variáveis	Segmento	Momento 0					Momento 1					Momento 2					p**		
		Escore				Mediana*	Escore				Mediana	Escore				Mediana	M0 vs M1	M1 vs M2	M0 vs M2
		0	1	2	3		0	1	2	3		0	1	2	3				
Lesão Epitelial	A	24	0	0	0	0	18	3	0	0	0	24	0	0	0	0	0,109	0,109	1,000
	C	24	0	0	0	0	20	3	1	0	0	24	0	0	0	0	0,068	0,068	1,000
	F	24	0	0	0	0	22	2	0	0	0	24	0	0	0	0	0,180	0,180	1,000
	p***	A vs C					1,000					0,361					1,000		
		C vs F					1,000					0,225					1,000		
		A vs F					1,000					0,593					1,000		
Edema	A	21	3	0	0	0	9	12	3	0	1	21	3	0	0	0	0,001	0,003	1,000
	C	21	3	0	0	0	13	8	3	0	0	20	4	0	0	0	0,008	0,018	0,686
	F	21	1	0	0	0	16	8	0	0	0	22	2	0	0	0	0,038	0,093	0,317
	p	A vs C					1,000					0,414					0,686		
		C vs F					0,361					0,154					0,361		
		A vs F					0,361					0,023					0,686		
Hiperemia	A	18	6	0	0	0	8	11	6	0	1	18	6	0	0	0	0,002	0,003	1,000
	C	21	3	0	0	0	6	12	6	0	1	19	5	0	0	0	0,0005	0,001	0,180
	F	20	4	0	0	0	6	13	5	0	1	20	4	0	0	0	0,001	0,0004	1,000
	p	A vs C					0,311					0,842					0,767		
		C vs F					0,735					0,834					0,686		
		A vs F					0,529					0,955					0,575		
Hemorragia	A	24	0	0	0	0	15	9	0	0	0	23	1	0	0	0	0,008	0,012	0,317
	C	24	0	0	0	0	15	6	3	0	0	23	1	0	0	0	0,008	0,012	0,317
	F	24	0	0	0	0	21	3	0	0	0	24	0	0	0	0	0,109	0,109	1,000
	p	A vs C					1,000					0,477					1,000		
		C vs F					1,000					0,018					0,317		
		A vs F					1,000					0,126					0,317		
Linfócitos e plasmócitos na lâmina própria	A	24	0	0	0	0	18	5	1	0	0	24	0	0	0	0	0,028	0,028	1,000
	C	24	0	0	0	0	20	4	0	0	0	24	0	0	0	0	0,068	0,068	1,000
	F	24	0	0	0	0	22	2	0	0	0	24	0	0	0	0	0,180	0,180	1,000
	p	A vs C					1,000					0,225					1,000		
		C vs F					1,000					0,180					1,000		
		A vs F					1,000					0,116					1,000		

* Mediana dos escores de 0 a 3; **Teste de Wilcoxon; *** Teste de McNemar; significância pm0,05.

es de edema no antro no M1, 80% (12/15) não mais se manifestaram no M2 ($p=0,003$), e as três com pior escore evoluíram para escore 1. No corpo, esta taxa de retorno à condição normal foi de 63,6% (7/11) ($p=0,018$) e no fundo de 75,0% (6/8) ($p=0,093$).

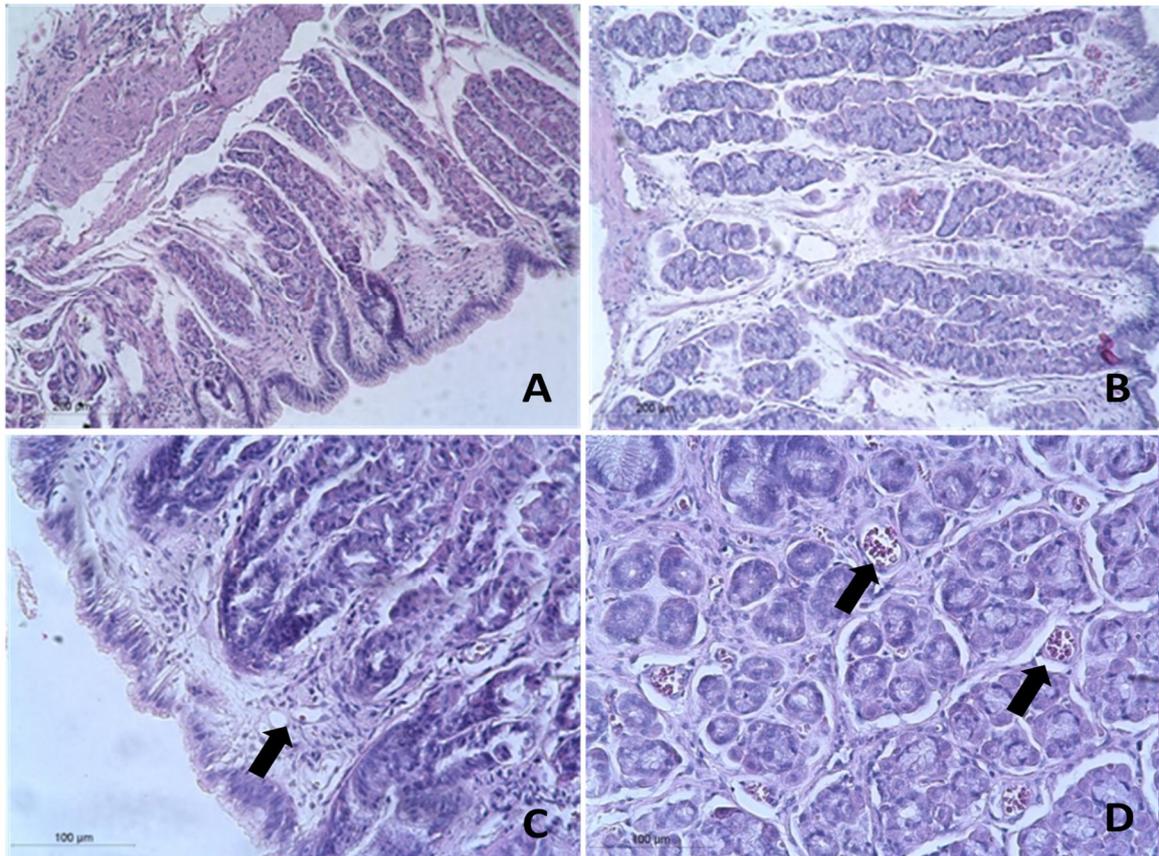


FIGURA 1 - Fotomicrografia das regiões glandulares estudadas e principais alterações histológicas verificadas em cães intoxicados com tetracloreto de carbono por via oral. Coloração: HE. A) Região glandular pilórica normal (10x). B) Região glandular fúndica normal (10x). C) Corpo gástrico com edema de escore 1 na lâmina própria (20x). D) Antro gástrico com dilatação dos vasos sanguíneos periglandulares classificado como hiperemia de escore 1 (20x).

Observou-se no M0 seis casos de hiperemia no antro (Figura 1D), três no corpo e quatro no fundo, todos com escore 1. No M1, a hiperemia foi verificada em 70,8% (17/24) das amostras do antro ($p=0,002$), onze foram escore 1 e seis escore 2; 75% (18/24) do corpo ($p=0,0005$), doze escore 1 e seis escore 2 e 75% (18/24) do fundo ($p=0,001$), treze escore 1 e cinco escore 2. Não houve diferença quanto a distribuição da hiperemia entre as regiões gástricas após a intoxicação ($p>0,05$). Em 17% (9/53) das observações neste momento a hiperemia se

tempo.

No M2 a frequência de hiperemia foi menor que no M1, no antro em 25% (6/24) das observações ($p=0,003$), no corpo em 20,8% (5/24) ($p=0,001$) e no fundo em 16,6% (4/24) ($p=0,0004$). Três animais que não desenvolveram esta alteração no M1 a manifestaram no M2, mesmo assim estes momentos não diferiram entre si ($p>0,05$).

Constatou-se vinte e duas observações de hemorragia (Figura 2A) após o tratamento, 37,5% (9/24) no antro ($p=0,008$), 41,6% (10/24) no corpo ($p=0,008$) e 12,5% (3/24) no fundo ($p=0,109$), mais frequentes no corpo que no fundo gástrico ($p=0,018$).

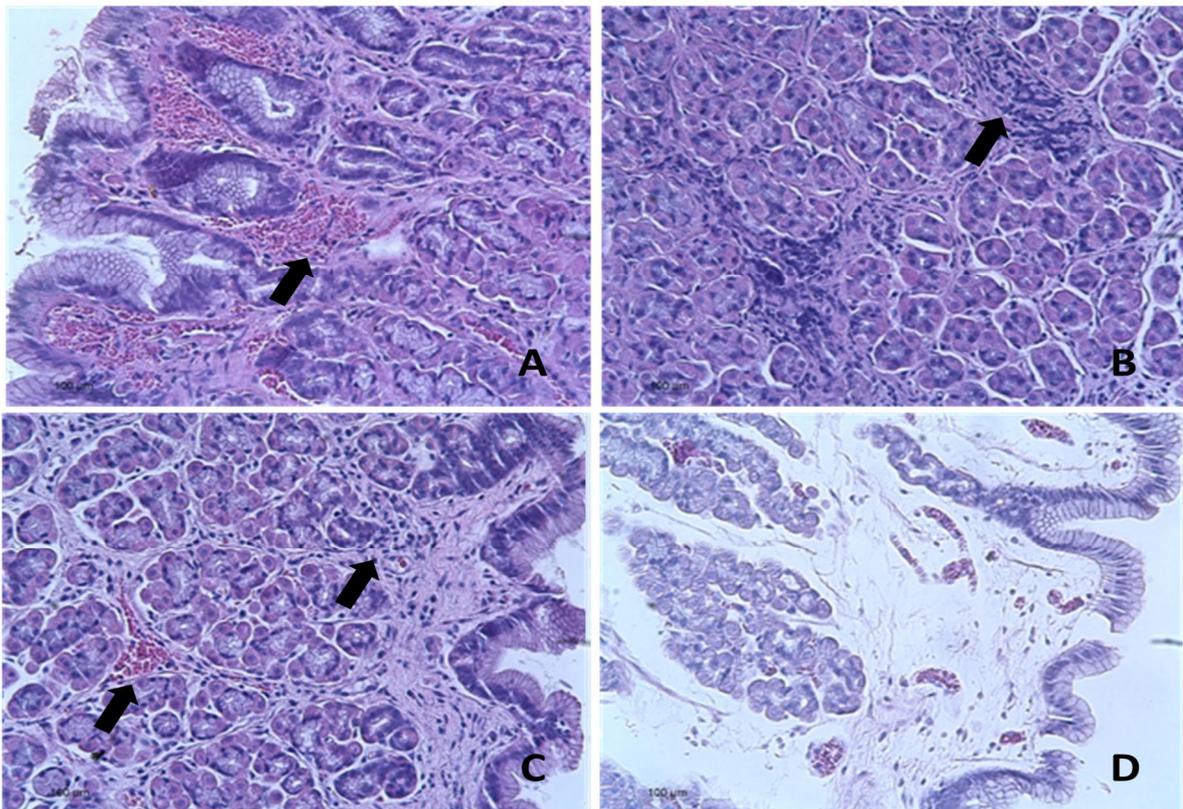


FIGURA 2 - Fotomicrografia das principais alterações histológicas verificadas em cães intoxicados com tetracloreto de carbono por via oral. Coloração: HE. Objetiva: 20x A) Corpo gástrico com hemorragia de escore 2 na lâmina própria. B) Folículos linfóides presentes na lâmina própria. C) Dilatação vascular e infiltração de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria. D) Descontinuidade epitelial, edema e hiperemia na lâmina própria do corpo gástrico.

estações no corpo apresentaram escore dois, as demais amostras desta e das demais regiões foram classificadas em escore um. Das observações no M1 88,9% (8/9) não mais foram identificadas no M2 para o antro ($p=0,012$) e corpo ($p=0,012$) gástricos. Os três animais que no M1 apresentaram hemorragia no fundo ($p=0,109$) retornaram a condição normal no M2 ($p=0,109$). Os dois casos de hemorragia verificados no M2 ocorreram em animais que a apresentaram em pior escore no M1.

O aumento do número de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 2C) foi verificado em doze amostras após o tratamento, distribuídos de maneira uniforme entre as regiões ($p>0,005$), sendo seis no antro ($p=0,008$), quatro no corpo ($p=0,068$) e dois no fundo ($p=0,180$). Dessas observações, uma foi de escore dois, no antro, as demais foram classificadas em escore um. No M0 e M2 não foi observada esta alteração.

Após a intoxicação, M1, foram identificados raros folículos linfoides (Figura 2B) e linfócitos intraepiteliais, os quais não chegaram a representar diferença na comparação entre os momentos nem na distribuição entre as regiões gástricas ($p>0,05$). Não se verificou atrofia e aumento do número de eosinófilos e neutrófilos na lâmina própria em nenhum momento estudado.

Discussão

O aumento da atividade sérica enzimática dos biomarcadores de integridade de hepatócitos (ALT e AST, $p<0,0001$) e ductos biliares (ALP e GGT, $p<0,0001$) observado após a intoxicação confirma que o tetracloreto de carbono causou hepatite aguda de natureza hepatocelular e colestática, semelhante ao verificado por FERREIRA (1998) e SEN et al. (2005), que utilizaram metodologia análoga para indução de lesão hepática tóxica cães.

Concomitantemente à hepatite aguda, confirmada pelos achados laboratoriais, verificou-se na avaliação gastroscópica e histológica o predomínio de alterações de natureza circulatória, como edema, hiperemia e hemorragia, que se desenvolveram com discretos componentes inflamatórios, compatíveis com a síndrome gástrica que se manifesta na hipertensão portal definida por PAPAIZIAN

et al. (2007) como gastropatia portal hipertensiva (GPH).

O conjunto de alterações de natureza circulatória identificadas por meio das técnicas empregadas para estudo da mucosa gástrica neste estudo foram suficientes para estabelecer o diagnóstico de GPH, dispensando a mensuração da pressão portal, pois segundo McCORMACK et al. (1985) e QUINTERO et al. (1987) não há correlação entre gravidade da GPH e níveis de hipertensão portal.

Os achados gastroscópicos de hiperemia e hemorragia observados neste trabalho são semelhantes aos descritos por McCORMACK et al. (1985) e QUINTERO et al. (1987) para caracterização endoscópica da GPH. No entanto, em função do caráter agudo da agressão hepática, as alterações observadas foram mais sutis que as descritas por THULUVATH et al. (2003), os quais verificaram a presença de áreas avermelhadas não hemorrágicas separadas por mucosa aparentemente normal definidas como padrão em mosaico, pele de cobra ou estômago em aspecto de melancia em pacientes cirróticos.

A técnica de endoscopia executada, descrita por SHERDING et al. (1999), permitiu a avaliação macroscópica das diferentes regiões do estômago dos cães. Na realização da biópsia, seguindo a técnica descrita por CORDEIRO et al. (2000), a única dificuldade encontrada foi a limitação para a obtenção de fragmentos do fundo gástrico em função da dificuldade de exposição da pinça no momento em que o endoscópio posicionava-se em retroflexão. A alternativa encontrada neste caso foi a realização de uma pequena exposição da pinça previamente à retroflexão seguida de movimentação do conjunto pinça-endoscópio em sentido oral. Este movimento auxiliou no contato da pinça com a mucosa, em ângulo de 90 graus, permitindo a penetração da pinça e remoção dos fragmentos de modo mais preciso.

O emprego da manobra complementar descrita e a utilização de pinça fenestrada oval de 2,3 mm se mostraram adequados para obtenção de fragmentos das diferentes regiões do estômago dos cães para estudo histológico. Segundo GUILFORD (2005) devido o pequeno tamanho da amostra, entre 2 mm e 3 mm, é importante dispor de material afiado e boa técnica para obtenção de fragmentos de boa qualidade para exame histológico.

de conteúdo presente no estômago após a administração do tóxico permite inferir que o tóxico não causou retardo no esvaziamento gástrico ou refluxo de conteúdo biliar. Segundo HIRATA et al. (2007) as principais consequências do atraso no esvaziamento gástrico e refluxo de bile são respectivamente o risco aspiração pulmonar de vômito durante a anestesia e ulceração gástrica pelos sais biliares, alterações não verificadas neste experimento.

Após a administração de CCl_4 , além das alterações circulatórias, observou-se infiltração de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria de 25% (4/24) dos animais ($p=0,028$), caracterizando gastrite linfocítico-plasmocitária, em consonância com MISRA et al. (1990), que verificaram 42% de prevalência de gastrite em pacientes porta-hipertensos. Por outro lado, os resultados obtidos também contemplam a definição de PAPAZIAN et al. (1986), que se referiram a GPH na ausência de componentes inflamatórios importantes, uma vez que observou-se infiltração de apenas um tipo celular, somente no antro gástrico, que acometeu poucos animais e com predominância de alterações discretas.

A maior intensidade do edema no antro ($p=0,023$) e da hemorragia no corpo gástrico ($p=0,018$) (Tabela 3) podem ser atribuídos a posição anatômica dessas regiões, tendo em vista o posicionamento do animal durante a intoxicação, decúbito esternal com pescoço esticado para cima, e função específica de cada segmento, respectivamente de acomodação do conteúdo ingerido e fracionamento mecânico do alimento (WILLARD, 2009), que favoreceram a permanência do tóxico por mais tempo nessas que correspondem às regiões mais baixas do órgão.

Previamente à administração do tóxico (M0), alguns animais já apresentavam edema e hiperemia (Tabela 3). Estas mesmas alterações foram verificadas no M2 em alguns indivíduos que não as apresentavam no M1. Segundo DAY et al. (2008) estas são alterações discretas, que podem ocorrer como artefato de técnica ou traumatismo pela pinça, que não contribuem para caracterização do tipo de inflamação, por isso não as incluem nos parâmetros histológicos de avaliação da mucosa gastrointestinal.

Entretanto, seja como artefato de técnica ou de origem iatrogênica, estas alterações seriam causas de variação para as quais se esperaria mesma

gástricos e momentos estudados, contribuindo de maneira equivalente para evidencição de diferenças estatísticas, o que não foi verificado. Como as consequências das hepatites agudas sobre o estômago se dão principalmente pelo comprometimento da circulação do órgão (FARIAS-SILVA et al., 2007), esperava-se que estas alterações circulatórias fossem bastante frequentes, como identificado, motivo pelo qual foram incluídas nos parâmetros histológicos de avaliação da mucosa neste trabalho.

Assim, pode-se inferir que a associação das variáveis edema, hiperemia e hemorragia aos parâmetros de avaliação histológica propostos por DAY et al. (2008) permitiram a identificação de diferenças mais sutis que aquelas decorrentes da inflamação e podem ser empregadas na avaliação de alterações circulatórias da mucosa gástrica de cães.

De modo geral as alterações gastroscópicas e histológicas foram identificadas apenas no dia seguinte à intoxicação, sugerindo que sete dias após a administração via oral de tetracloreto de carbono aos cães a integridade da mucosa apresentou-se equivalente a de animais hígidos. Isso pode ser atribuído ao caráter agudo da intoxicação, sem persistência do agente agressor, e à rápida reparação da mucosa gástrica, na qual o muco, restos celulares e plasma que extravasam dos capilares da mucosa formam um tampão e impedem a exposição da membrana basal ao ácido; entre 30 e 60 minutos as células saudáveis vizinhas se achatam e migram ao longo da membrana basal até se encontrarem para formar novas junções firmes e restabelecer a integridade do epitélio, processo conhecido por restituição epitelial (WALLACE & MA, 2001).

Entretanto, quando o agente causal persiste ou é muito agressivo a restituição epitelial não é eficiente e evolui para erosões e ulcerações com proliferação celular, ativação de fibroblastos e angiogênese, processo conhecido como regeneração. Nestes casos, a inflamação é patente e grande número de células inflamatórias está presente (COELHO, 2001), o que não foi constatado neste estudo.

A conhecer a rápida reparação da mucosa gástrica, para identificação dos efeitos causados pelo contato direto com o tóxico seria imprescindível a realização das avaliações gastroscópicas e histológicas minutos após a administração do tetracloreto de carbono, o que não foi realizado em função dos

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

o pelo contato com a substância e necessidade de prorrogação do tempo anestésico nos animais intoxicados, o que elevaria o risco de óbito. Assim, não se pode dizer que não houve contribuição do contato direto com o tóxico para o desenvolvimento das alterações encontradas, a pesar de BASU (2003) e RAO et al. (2006) atribuírem os principais efeitos tóxicos aos produtos do metabolismo do CCl_4 e não ao contato direto com a substância.

Conclusões

O tetracloreto de carbono administrado por via oral aos cães causa alterações circulatórias difusas na mucosa gástrica, detectáveis a gastroscopia e confirmadas por meio de exame histológico.

1. ABRALDES, J. G.; BOSCH, J. Novel approaches to treat portal hypertension. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Melbourne, v. 17, n. 3, p. 232-241, 2002.
2. BASU, S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. **Toxicology**, v. 189, n. 1-2, p. 113-127, 2003.
3. BLENDIS, L.; WONG, F. Is there a cirrhotic cardiomyopathy? **The American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 95, n. 3, p. 3026-28, 2000.
4. COELHO, L. G. V. Gastrites. In: DANI, R. **Gastroenterologia essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. cap.17, p.137-148.
5. CORDEIRO, F. T. M.; MAGALHÃES, A. F. N.; PROLLA, J. S.; QUILICI, F. A. **Endoscopia Digestiva É Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva**. 3. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2000. 713 p.
6. DAY, M. J.; BILZER, T.; MANSELL, J.; WILCOCK, B.; HALL, E. J.; JERGENSK, A.; MINAMI, T.; WILLARD, M.; WASHABAU, R. Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the world small animal veterinary association gastrointestinal standardization group. **Journal of Comparative Pathology**, London, v.138, n.1, p.1-43, 2008.
7. DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 942 p.
8. FARIAS-SILVA, E.; COLA, M.; CALVO, T. R.; BARBASTEFANO, B.; FERREIRA, A. L.; DE APULA MICHELATTO, D.; ALVES DE ALMEIDA, A. C.; HIRUMA-LIMA, C. A.; VILEGAS, W.; BRITO, A. R. Antioxidant activity of indigo and its preventive effect against ethanol-induced DNA damage in rat gastric mucosa. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 73, n. 12, p. 1241-46, 2007.
9. FERREIRA, F. M. **Aspectos morfológicos avaliados por histopatologia e tomografia computadorizada do fígado de cães intoxicados**

14. 1998. 70 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) . Escola de Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
10. GUILFORD, W. G. **Upper gastrointestinal endoscopy**. In: McCarthy, T. C. *Veterinary Endoscopy for the Small Animal Practitioner*. New York: Elsevier, 2005. cap. 4, p. 279-321.
11. HIRATA, E. S.; MESQUITA, M. A.; ALVES FILHO, G.; TERRA, C. H. O esvaziamento gástrico e a insuficiência renal crônica. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Rio de Janeiro, v. 57, n. 4, p. 421-430, 2007.
12. HOEFEL, H. Microbiologia e endoscopia. In: MULLER, S.; LAGEMANN, R. C. **Enfermagem em endoscopia digestiva**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2002. cap.12, p. 233-241.
13. IWAKIRI, Y.; CADELINA, G.; SESSA, W. C.; GROSZMANN, R. J. Mice with targeted deletion of eNOS develop hyperdynamic circulation associated with portal hypertension. **American Journal of Physiology and Gastrointestinal Liver Physiology**, Bethesda, v. 283, n. 5, p. 1074-81, 2003.
14. KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 Ed. New York: Academic Press, 1997. cap. 13, p. 327-352.
15. KERR, M. G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica clínica e hematologia**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2003. 436 p.
16. McCORMACK, T. T.; SIMS, J.; EYRE-BROOK, I.; KENNEDY, H.; GOEPEL, J.; JOHNSON, A. G. Gastric lesions in portal hypertension: inflammatory gastritis or congestive gastropathy? **Gut**, London, v. 11, n. 26, p. 126-32, 1985.
17. MISRA, S. P.; DWIVEDI, M.; MISRA, V.; AGARWAL, S. K.; GUPTA, R.; GUPTA, S. C.; MITAL, V. P. Endoscopic and histologic appearance of the gastric mucosa in patients with portal hypertension. **Gastrointestinal Endoscopy**, Denver, v. 36, n. 6, p. 575-579, 1990.
18. ODABASI, M. Halogenated volatile organic compounds from the use of chlorine-bleach-containing household products. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 42, n. 5, p. 1445. 1451, 2008.

A.; DUPAS, J. L.; SEVENET, F.; CAPRON, J. P.

Portal hypertensive gastric mucosa: an endoscopy estudy. **Gut**, London, v. 27, n. 10, p. 1199-203, 1986.

20. QUINTERO, E.; PIQUE, J. M.; BOMBI, J. A.; BORDAS, J. M.; SENTIS, J.; ELENA, M.; et al. Gastric mucosal vascular ectasias causing bleeding in cirrhosis. A distinct entity associated with hypergastrinemia and low serum levels of pepsinogen I. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 93, n. 5, p. 1054-61, 1987.
21. RAO, G. M. M.; RAO, C. V.; PUSHPANGADAN, P.; SHIWAIKAR, A. Hepatoprotective effects of rubiadin, a major constituent of *Rubia cordifolia* Linn. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 103, n. 3, p. 484-490, 2006.
22. SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal. 3.ed.** Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootécnia, 2007. 264 p.
23. SEN, I.; TURGUT, M.; OK, M.; KIRAN, M. M.; GUZELBEKTES, H.; ORTATATLI, M.; BIRDANE, F. M.; ALTUNOK, V. Effects of nutritional therapy or n-Acetyl-Cysteine (NAC) treatment on biochemical markers and liver histology in dogs with CCL4-induced hepatic necrosis. **Revue de Medicine Veterinaire**, Toulouse, v. 156, n. 10, p. 483-490, 2005.
24. SHERDING, R. G.; JOHNSON, S. E.; TAMS, T. R. Esophagoscopy. In: TAMS, T. R. **Small animal endoscopy**. St. Louis: Mosby, cap. 4., p. 39-96, 1999 Cited In: BEHLE, L. Avaliação videoendoscópica e histológica da mucosa gástrica de cães da raça Poodle Toy e sem raça definida submetidos ao tratamento experimental com meloxicam. 2008. 76f. Dissertação. (Mestrado em Medicina Veterinária) . Escola de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
25. TARIQ, M.; MOUTAERY, A. A. Menadione protects gastric mucosa against ethanolinduced ulcers. **Experimental and Toxicologic Pathology**, Jena, v. 56, n. 6, p. 393. 399, 2005.

-), H. Y. Portal hypertensive gastropathy. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 97, n. 12, p. 2973-78, 2003.
27. WALLACE, J. L.; MA, L. I. Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury. **Experimental biology and medicine**, Maywood, v. 226, n. 11, p. 1003-15, 2001.
28. WASHABAU, R. J.; DAY, M. J.; WILLARD, M. D.; HALL, E. J.; JERGENS, A. E.; MANSELL, J.; MINAMI, T.; BILZER, T. W. Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 24, n. 1, p. 10-26, 2010.
29. WILLARD, M. D. Desordens do sistema digestivo. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 4.ed. São Paulo: Rocca, 2009. cap.7, p.351-476.

O DE TÉCNICAS PARA A DETECÇÃO DE *HELICOBACTER SPP* NA MUCOSA GÁSTRICA DE CÃES

Resumo

As helicobactérias estão envolvidas na gênese das enfermidades gástricas no homem, porém, em cães ainda não está esclarecida esta participação. Por isso, em ambas espécies, o conhecimento das particularidades das técnicas de detecção destes micro-organismos se fazem importantes. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi comparar a eficiência de três técnicas em detectar bactérias deste gênero nas regiões do antro, corpo e fundo gástricos de cães. Realizou-se gastroscopia em 24 cães machos, adultos e em um único momento experimental. Empregando a técnica de biopsia esfoliativa, colheu-se o muco e, por biopsia incisional, colheram-se fragmentos da mucosa. O muco foi depositado em lâminas, fixado em metanol e corado por Giemsa. O teste rápido de urease (TRU) foi realizado por meio da imersão dos fragmentos em solução contendo uréia como substrato e vermelho fenol como indicador de pH. Os cortes histológicos foram corados por hematoxilina e eosina (HE), Giemsa (GI) e Warthin-Starry (WS). No antro gástrico os resultados da citologia discordaram ($p < 0,05$) de todas as outras técnicas e no corpo do estômago apenas da coloração de HE ($p = 0,016$). Independente da região gástrica, a prevalência foi maior ao exame citológico e a sensibilidade mais elevada no corte histológico corado por WS. Concluiu-se que técnica mais eficiente é a citologia, seguida dos cortes corados por Warthin-Starry, e a região mais indicada para colheita dos espécimes é o fundo gástrico.

Palavras-chave: citologia, urease, Warthin-Starry.

COMPARISON OF TECHNIQUES FOR HELICOBACTER SPP DETECTION IN DOGS GASTRIC MUCOSA

Abstract

The helicobacters are implicated in the genesis of gastric diseases in humans, however, it's no clear in dogs. Therefore, in both species, the knowledge of techniques peculiarities for detecting this agents are important. In this sense, the goals of this study were to compare the effectiveness of three techniques for detecting this bacteria genus in the regions of antrum, body and gastric fundus of dogs. Gastroscopy was performed in 24 adult male dogs in a single experimental point. Employing the technique of brushing, mucus was collected and, via incisional biopsy, mucosa fragments were collected. The mucus was deposited on slides, fixed in methanol and stained with Giemsa. The fast urease test (TRU) was performed by the fragments immersion into a solution containing urea as substrate and phenol red as a pH indicator. The histological sections were stained with hematoxylin and eosin (HE), Giemsa (GI) and Warthin-Starry (WS). In the gastric antrum the cytology results differed ($p < 0.05$) from all other techniques and in the body of the stomach only the HE staining ($p = 0.016$). Regardless of the gastric region the prevalence was higher in cytology and the sensitivity higher in histological sections stained with WS. It was concluded that the most effective technique was the cytology and the most suitable region for specimen collection is the fundus.

Keywords: cytology, urease, Warthin-Starry.

O *Helicobacter pylori* (HP) é uma bactéria Gram negativa, do gênero *Helicobacter* (*Helicobacter spp* - HSP), microaerófila, móvel, curva ou espiralada, com quatro a seis flagelos terminais. Sua ação está vinculada à grande produção de amilases, peptidases, fosfatases, fosfolipases e urease (LECOINDRE et al., 2000; FLATLAND, 2002).

As bactérias desse gênero encontradas no estômago de cães e gatos foram designadas inicialmente como *Gastrospirillum hominis* e atualmente como *Helicobacter heilmannii* (HH). São bactérias espiraladas, com dimensões entre 4 e 10 μm , portanto, maiores que HP, que medem entre 1,5 e 3 μm (NEIGER & SIMPSON, 2000).

De forma inédita, SHABESTARI et al. (2010) caracterizaram por meios bioquímicos, morfológicos e moleculares espécies atípicas e cultiváveis de helicobactérias menores que 5 μm em cães, estreitando ainda mais as possibilidades de identificação da infecção natural em cães por HP.

Comprovadamente, as bactérias do gênero *Helicobacter* participam na gênese das enfermidades gástricas no homem. Entretanto, a relação entre a presença desses microrganismos e o desenvolvimento de doenças gástricas também no cão, bem como a patogenia desse evento em ambas as espécies ainda não está elucidado. Como certo, aponta-se o potencial zoonótico, uma vez que, está confirmada a presença de microrganismos gástricos com morfologia semelhante no estômago de diversas espécies animais e maior taxa de colonização gástrica em cães que possuem contato mais próximo com o homem (CARVALHO et al., 2008; QUIROGA et al., 2009).

Diversas técnicas podem ser empregadas na detecção de bactérias do gênero *Helicobacter*. As técnicas não invasivas envolvem a detecção de anticorpos anti-*Helicobacter* no soro, suco gástrico, saliva, urina, cultura das fezes e teste respiratório com uréia marcada com carbono 13 ou 14. As técnicas invasivas, que dependem de endoscopia, possibilitam a realização de citologia da mucosa gástrica e obtenção de fragmentos para isolamento em meios de cultura, teste rápido de urease (TRU), exame histológico e análise por meio de biologia molecular (CUTLER et al., 1995; BRESLIN & OLMORAIN, 1997).

ANICH (2007), por apresentarem metodologias mais simples e disponíveis, o TRU e a pesquisa das bactérias em cortes histológicos são frequentemente utilizados como exames de rotina em seres humanos. Sob este prisma, CUSTÓDIO et al. (2005) complementam que em pacientes com contra-indicação à biópsia, a citologia gástrica é um método que deve ser adicionado na rotina, por se tratar de uma técnica de execução rápida e minimamente invasiva que possibilita a pesquisa de bactérias.

MOSTAGHNI et al. (2008) demonstraram a eficiência do exame citológico em identificar helicobactérias ao comparar o teste de urease, a citologia e a histologia corada por HE em 109 fragmentos de antro gástrico de pacientes com dispepsia. Os autores verificaram que o teste de urease, a citologia e a histologia, respectivamente, detectaram prevalências de 59%, 78% e 66%, e sensibilidade de 72%, 95% e 80,5%.

Atualmente os animais de companhia são valorizados como agentes de transformação psicológica e emocional em seres humanos, dessa forma, todos os esforços despendidos no sentido de prolongar e melhorar a qualidade de vida desses animais se fazem relevantes. Além disso, deve-se considerar a importância que os aspectos zoonóticos adquirem em decorrência dessa estreita relação e o escasso conhecimento das particularidades das diferentes técnicas de diagnóstico da helicobacteriose, que possui reconhecido potencial zoonótico (QUIROGA et al., 2009).

Assim, este trabalho tem por objetivo verificar a técnica mais eficiente em detectar bactérias do gênero *Helicobacter* no estômago de cães, por meio da comparação dos métodos citológico, teste rápido de urease e cortes histológicos corados por HE, Giemsa e Warthin-Starry, além de identificar a região anatômica mais indicada para a colheita de amostras.

Animais

As atividades experimentais foram realizadas nas dependências da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) da Universidade Federal de Goiás (UFG), obedecendo aos preceitos éticos em experimentação animal normatizados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL), após aprovação pelo Comitê de Ética na Experimentação em Animais da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da UFG, protocolo de número 164/2009.

Foram utilizados 24 cães machos adultos, mestiços, com peso médio de $15 \pm 6,2$ kg, os quais, ao final do estudo, foram encaminhados para adoção. Os animais foram alojados em baias individuais e receberam ração balanceada e água *ad libitum*. Durante este período foram submetidos às medidas profiláticas de desverminação, vacinação e controle de ectoparasitas. A higidez foi testada por meio de exames clínicos e laboratoriais (hemograma, urinálise, exames parasitológicos e bioquímicos).

Delineamento experimental

Constatada a higidez, os animais foram submetidos em um único momento ao exame de gastroscopia para a colheita de muco, por biópsia esfoliativa, e de fragmentos da mucosa, via biópsia incisional, das regiões do antro, corpo e fundo. O material obtido por escovação foi utilizado para os exames de citologia e os fragmentos de mucosa para o teste rápido de urease e pesquisa de *Helicobacter spp* em cortes histológicos corados por hematoxilina e eosina, Giemsa e Warthin-Starry.

O exame citológico foi estabelecido como padrão-ouro, pois, segundo FLATLAND (2002), é um exame que permite a visualização direta das bactérias de um microambiente normalmente não colonizado por outros agentes de características morfológicas semelhantes.

Os cães foram submetidos a jejum prévio de 24 horas. A pré-anestesia foi realizada com 0,15 mg/kg de midazolam (Dormonid[®] - Roche . Jaguaré . SP), a indução anestésica com 5mg/kg de propofol (Profolen[®] - Blausiegel . Cotia - SP) e a manutenção com isoflurano a 2,5% (Isoflurane[®] - Cristália . Itapira . SP). Durante o procedimento os animais tiveram as frequências cardíaca e respiratória, o traçado eletrocardiográfico e a saturação de gases acompanhados instantaneamente por meio do monitor Inmaxvet[®] (Instramed . Porto Alegre . RS).

Sob anestesia geral, os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo, com a cabeça e o pescoço estendidos e a boca mantida aberta com abridor de bocas. Precedendo a introdução do endoscópio, o tubo de inserção foi lubrificado com uma fina camada de gel de lidocaína a 2% (Lidogel[®] - Neo química . Anápolis - GO). Em seguida, os equipamentos utilizados foram fibrogastrosκόpio (FG 29v[®] - Pentax . China) com um metro de comprimento, 9,8mm de diâmetro, com canal de sucção e biopsia de 2,8 milímetros, acoplado a aspirador cirúrgico (Aspira Max[®] - NS Industrial . São Paulo - SP), insuflador e fonte de luz halógena de 250 watts (Ferrari Medical[®] - São Paulo - SP), pinça de biopsia fenestrada oval de 2,3 milímetros com agulha (Ferrari Medical[®] - São Paulo - SP) e escova de citologia (Medi-Globe[®] - GmbH - Alemanha).

O endoscópio foi direcionado ao longo da orofaringe e guiado dorsalmente ao tubo endotraqueal. Após passagem pelo esfíncter esofágico, percorreu-se o esôfago insuflado até a transposição do cárdia e a entrada no estômago. Após insuflação, foi visualizado o corpo do estômago e deslizou-se o equipamento ao longo da curvatura maior até o antro e piloro, onde se procedeu a manobra de retroflexão para a observação do cárdia, curvatura menor e fundo gástrico, como orientado por SHERDING et al. (1999) e CORDEIRO et al. (2000).

Após realização das biopsias aspirava-se o ar insuflado no estômago e procedia-se a remoção do equipamento. Ao final de cada procedimento endoscópico a limpeza do aparelho, pinças de biopsia (Figura 1A) e escovas de citologia (Figura 1B) foi efetuada com detergente enzimático (Ecosime[®] - Lenzafarm . Belo Horizonte - MG) e a desinfecção com glutaraldeído a 2,4%

José do Rio Preto . SP) por trinta minutos, como
recomendado por HOEFEL (2002).

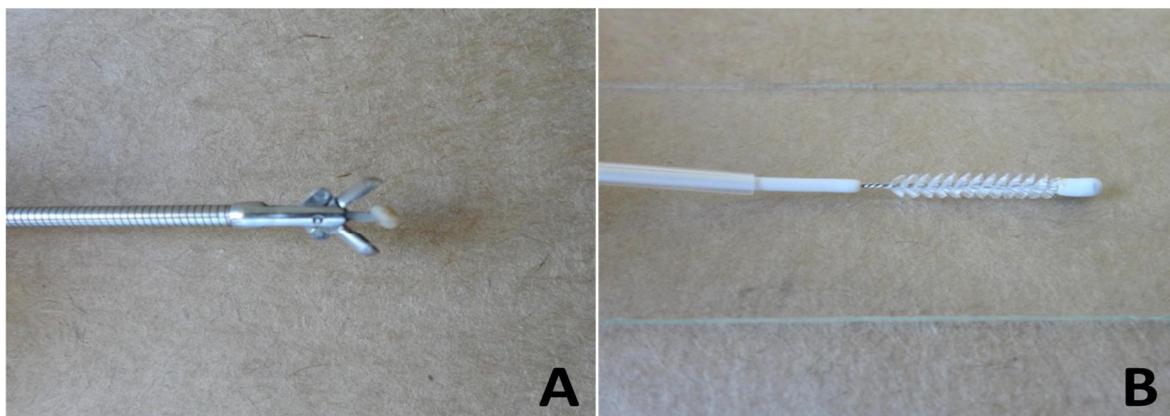


FIGURA 1 . Pinças empregadas para realização das biopsias gástricas. A) Pinça de biopsia incisional com fragmento de mucosa na extremidade da agulha. B) Escova de citologia posicionada sobre lâmina histológica de vidro.

Exame de citologia

Após a varredura macroscópica inicial, que teve por objetivo evitar áreas que eventualmente pudessem apresentar algum comprometimento, o equipamento foi justapositionado sobre cada uma das três regiões para a colheita de muco. Com a escova guardada no interior do cateter de teflon, fazia-se com que toda a extensão da pinça percorresse o canal de biopsia, até sair na extremidade distal, para então expor a escova e arrastá-la suavemente contra a parede gástrica. Em seguida, recolhia-se a escova para o interior do cateter e procedia-se a retirada da pinça do endoscópio, como orientado por HAPPONEN et al. (1996).

Após ser retirada do equipamento, a escova de citologia foi exposta e friccionada contra lâminas histológicas de vidro, que foram secadas, fixadas no metanol e coradas por Giemsa. A avaliação foi realizada em microscópio óptico, à objetiva de 100x, sob imersão, e compreendeu a pesquisa das bactérias em dez campos, como orientado por HAPPONEN et al. (1996). Os resultados foram classificados de acordo com a ausência ou presença em negativo (Figura 2A) ou positivo (Figura 2B).

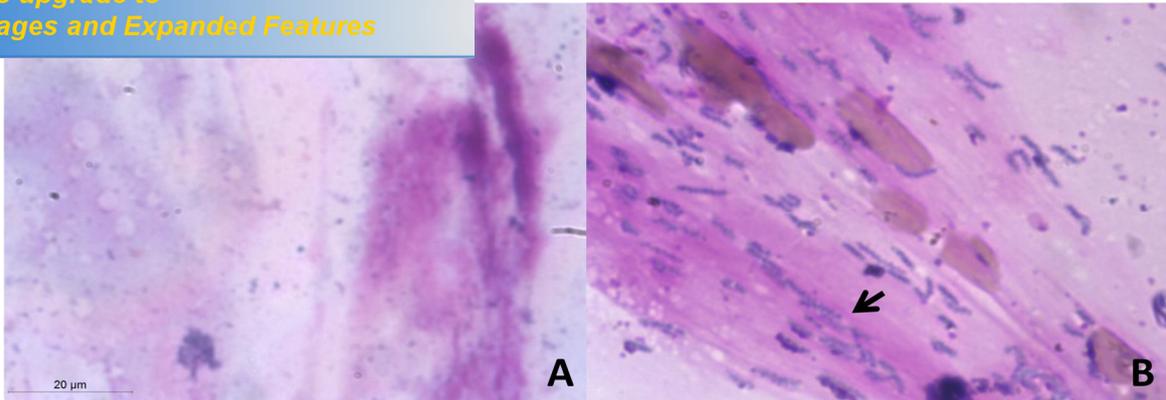


FIGURA 2 - Fotomicrografia do muco corado por Giemsa. Objetiva: 100x. A) Exame citológico negativo . muco não colonizado. B) Resultado positivo . muco com helicobactérias.

Teste rápido de urease

Os fragmentos das diferentes regiões do estômago, incluindo antro, corpo e fundo, foram colhidos após a realização do escovado gástrico, evitando-se, dessa forma, que o sangramento resultante da biópsia incisional interferisse na pesquisa das bactérias por citologia.

Durante a colheita dos fragmentos a pinça foi introduzida pelo canal de biópsia do endoscópio e exposta na cavidade gástrica. Assim que aberta foi empurrada contra a parede gástrica e, em seguida, fechada para apreender o fragmento. Em ato contínuo, a pinça com a amostra foi recolhida, passando novamente pelo canal de biópsia até o exterior. Os procedimentos seguiram as orientações de SHERDING et al. (1999).

Foram colhidos três fragmento de cada região. Com o auxílio de uma agulha, os fragmentos da mucosa gástrica foram removidos da pinça de biópsia e disponibilizados para cada tipo de exame a ser realizado. Os fragmentos destinados ao TRU foram imersos em solução contendo uréia como substrato e vermelho fenol como indicador de pH (Farmácia Artesanal® . Goiânia - GO). Aqueles que apresentaram viragem da cor da solução do amarelo para o avermelhado, resultante da degradação da uréia pela urease bacteriana, foram classificados como positivos e os que permaneceram inalterados em negativos (Figura 3). A leitura da viragem foi realizada 24 horas após a imersão do

em que, de acordo com as recomendações de BROWN & PEURA (1993), são observados 98% dos resultados positivos.



FIGURA 3 - Teste rápido de urease. Resultado negativo a esquerda e positivo a direita.

Pesquisa de *Helicobacter spp* em cortes histológicos

Os demais fragmentos obtidos por biópsia incisional foram revestidos em papel absorvente e imersos em formalina tamponada a 10%, por 24 horas, e depois mantidos em álcool 70% até o momento do processamento. Cortes histológicos de 5µm foram confeccionados utilizando micrótomo rotativo e, em seguida, distendidos sobre lâminas histológicas de extremidade fosca. Os fragmentos foram corados por hematoxilina e eosina (HE), Giemsa (GI) e Warthin-Starry (WS) (Figura 4). Em seguida, foram cobertos com resina sintética e lamínula histológica para a avaliação em microscópio óptico, à objetiva de 100x, sob imersão.

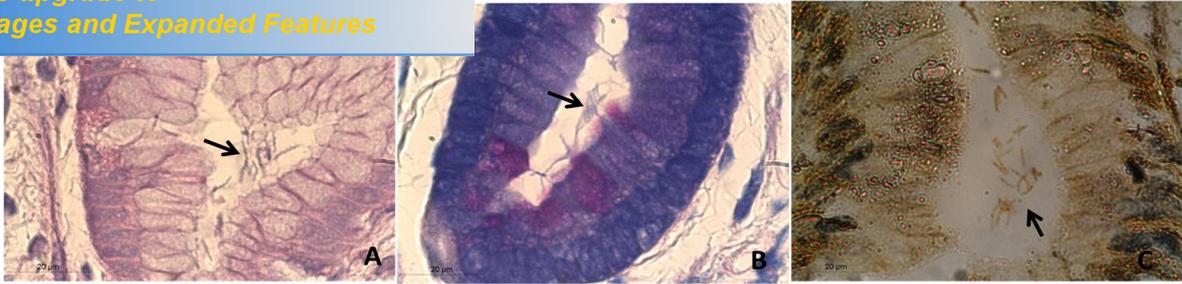


FIGURA 4 . Fotomicrografia de cortes histológicos da fovéola gástrica colonizada por helicobacterias. Objetiva: 100x. A) Coloração de HE. B) Coloração de GIEMSA. C) Coloração de Warthin-Starry.

Devido a qualidade de identificação do agente, a densidade de colonização (DC) bacteriana foi determinada a partir da avaliação do corte histológico corado por WS sendo atribuídos escores a escala de imagem semi-quantitativa proposta por HAPPONEN et al. (1998), em que o escore zero refere-se à ausência de bactérias, um à presença discreta, dois à moderada e três à acentuada (Figura 5).

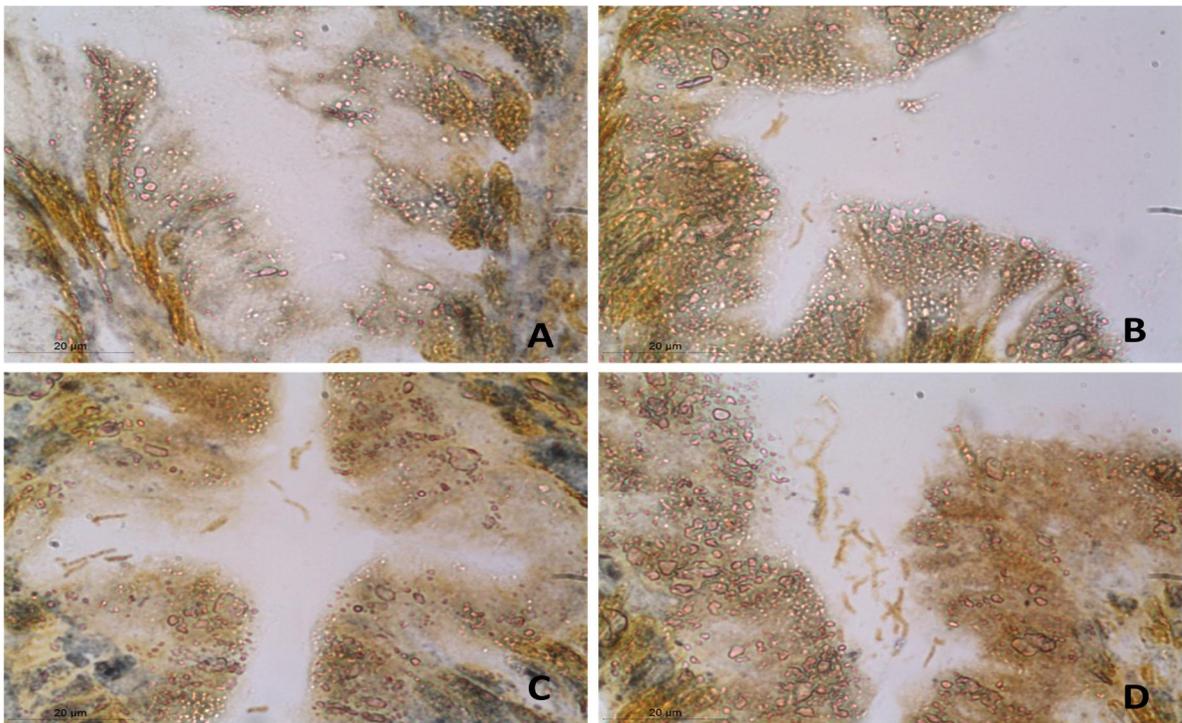


FIGURA 5 . Fotomicrografia de cortes histológicos corados por Warthin-Starry. Objetiva: 100x. A) Ausência de helicobactérias. B) Presença discreta de helicobactérias (escore 1). C) Presença moderada de helicobactérias (escore 2). D) Presença acentuada de helicobactérias (escore 3).

Os dados obtidos foram avaliados quanto à normalidade por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov e apresentados na forma de tabelas. A discordância entre os resultados dos exames de citologia, TRU e cortes histológicos corados por HE, GI e WS, nas regiões do antro, corpo e fundo gástricos foram avaliados por meio do teste de McNemar. As médias dos escores da densidade de colonização foram comparadas por meio do teste de Wilcoxon. A sensibilidade foi calculada a partir da divisão do número de observações verdadeiramente positivas sobre o somatório do número de observações verdadeiramente positivas mais as falso negativas, como orientado por FLETCHER et al. (1991).

Todos os testes estatísticos seguiram as orientações de MONTEIRO FILHO (2004) e o tratamento dos dados foi realizado com o emprego de programa computacional (Biostat 5.3[®] - Tefé - AM) para o Windows XP, considerando-se o nível de significância de 5%.

Resultados

Por meio da avaliação de discordância (Tabela 1) verificou-se que, no antro gástrico, a citologia discordou do TRU em 62,5% (15/24; $p=0,007$) das avaliações. Em relação à coloração de HE a discordância foi de 66,6% (16/24; $p=0,004$) à de GI, de 45,8% (11/24; $p=0,012$), e na comparação com a de WS foi de 41,6 % (10/24; $p=0,021$). No corpo do estômago, apesar da concordância em 17 avaliações, foram observados sete resultados positivos na citologia que não foram detectados por meio do TRU ($p=0,016$).

ênãncia entre o exame de citol3gia, teste r3pido de urease (TRU) e pesquisa de *Helicobacter spp* em cortes histol3gicos corados por hematoxilina e eosina (HE), Giemsa (GI) e Warthin-Starry (WS) nas regi3es do antro, corpo e fundo do est3mago de c3es

Exame/Discord3ncia	Antro				Corpo			Fundo		
		+	-	p *	TRU			HE		
					+	-	p	+	-	p
HE	+	1	6	1,000	16	0	0,250	19	1	0,625
	-	6	11		3	5		3	1	
GI	+	5	4	0,687	18	1	1,000	21	1	1,000
	-	2	13		1	4		1	1	
WS	+	4	6	0,507	18	0	1,000	22	2	0,500
	-	3	11		1	5		0	0	
CITOLOGIA	+	5	13	0,007	18	4	0,375	22	2	0,500
	-	2	4		1	1		0	0	
HE										
GI	+	2	7	0,774	15	4	0,125	20	2	0,500
	-	5	10		0	5		0	2	
WS	+	4	6	0,507	15	4	0,125	20	4	0,125
	-	3	11		0	5		0	0	
CITOLOGIA	+	5	14	0,004	15	7	0,016	20	4	0,125
	-	2	3		0	2		0	0	
GI										
WS	+	5	5	1,000	17	2	1,000	22	2	0,500
	-	4	10		2	3		0	0	
CITOLOGIA	+	8	10	0,012	17	5	0,453	22	2	0,555
	-	1	5		2	0		0	0	
WS										
CITOLOGIA	+	9	9	0,021	19	3	0,250	24	0	1,000
	-	1	5		0	2		0	0	

* Teste de McNemar, signific3ncia pm0,05.

A efici3ncia do exame de citologia foi maior que a do TRU e dos cortes histol3gicos corados por HE, GI e WS em detectar bact3rias do g3nero *Helicobacter* na mucosa g3strica dos c3es, sendo de 75,00% (18/24) no antro, 91,66% (22/24) no corpo e 100% (24/24) no fundo g3strico (Tabela 2). A sensibilidade do corte histol3gico corado por WS foi maior que dos demais testes em detectar os micro-organismos, sendo de 50,00%, 86,36% e 100%, respectivamente, para antro, corpo e fundo do est3mago.

a por densidade de colonização (DC), prevalência e sensibilidade dos exames de citologia, teste rápido de urease (TRU) e pesquisa de *Helicobacter spp* em cortes histológicos corados por hematoxilina e eosina (HE), Giemsa (GI) e Warthin-Starry (WS) nas regiões do antro, corpo e fundo do estômago de cães

Antro						
DC	Citologia	TRU	HE	GI	WS	
0	0	2	2	1	0	
1	8	0	0	2	2	
2	8	3	4	4	6	
3	2	2	1	2	2	
Prevalência (%)	18 (75,00)	7 (29,16)	7 (29,16)	9 (37,50)	10 (41,66)	
Sensibilidade* (%)	nc**	27,77	26,31	44,44	50,00	
Corpo						
0	0	0	0	0	0	
1	1	1	0	2	1	
2	8	5	5	5	5	
3	13	14	11	12	13	
Prevalência (%)	22 (91,66)	20 (83,33)	16 (66,66)	19 (70,16)	19 (70,16)	
Sensibilidade (%)	nc	81,81	68,18	72,27	86,36	
Fundo						
0	0	0	0	0	0	
1	4	3	0	2	4	
2	5	4	5	5	5	
3	15	15	15	15	15	
Prevalência (%)	24 (100)	22 (91,66)	20 (83,33)	22 (91,66)	24 (100)	
Sensibilidade (%)	nc	91,66	83,33	91,66	100	

*Calculada a partir da fórmula: verdadeiro positivo/verdadeiro positivo+falso negativo

** nc = não comparado

No antro gástrico constatou-se o maior número de animais com densidade de colonização escore zero (DC0=25,0%; 6/24). Além disso, verificou-se o menor número de observações na DC escore três (DC3=8,4%; 2/24) (Tabela 3). Diversamente, nas regiões de corpo e fundo nenhum animal apresentou DC zero e o maior número de observações foi na DC escore 3, sendo respectivamente, DC3=54,2% (13/24) e DC3=62,5% (15/24). A densidade média de colonização (DMC) do antro foi de $1,25 \pm 0,94$, sendo menor quando comparada à DMC no corpo ($2,41 \pm 0,71$; $p=0,0004$) e fundo ($2,45 \pm 0,77$; $p=0,0003$) do estômago.

e colonização (DMC) e desvios padrão (DP) dos escores da densidade de colonização (DC) por *Helicobacter spp* no antro (A), corpo (C) e fundo (F) gástrico de cães verificados em corte histológico corado por WS

DC	Antro		Corpo		Fundo	
	N* (%)	N x DC	N (%)	N x DC	N (%)	N x DC
0	6 (25,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0
1	8 (33,3)	8	3 (12,5)	3	4 (16,7)	4
2	8 (33,3)	16	8 (33,3)	16	5 (20,8)	10
3	2 (8,4)	6	13 (54,2)	39	15 (62,5)	45
DMC ± DP		$1,25 \pm 0,94^a$		$2,41 \pm 0,71^b$		$2,45 \pm 0,77^b$
Contrastes**	A vs C	$0,0004$				
	C vs F			$0,824$		
	A vs F					$0,0003$

*N= número de animais

**Teste de Wilcoxon, significância pm0,05.

Discussão

A técnica de colheita de muco por meio da fricção da escova de citologia contra a parede do estômago, como orientado por HAPPONEN et al. (1996), e empregado neste estudo, se mostrou exequível e permitiu a obtenção de amostra das regiões do antro, corpo e fundo gástricos com mínima agressão tecidual, como postulado por CUSTÓDIO et al. (2005), uma vez que não foram observados alterações macroscópicas como hiperemia e hemorragia da mucosa imediatamente após a realização do procedimento.

Por outro lado, observou-se que quando a escova era recolhida para o interior do cateter, parte do material colhido que ficava sobre as cerdas era removido pelas bordas da extremidade distal do cateter, o que demandou a repetição da exposição e fricção da escova na mucosa por duas a três vezes para a obtenção de quantidade suficiente de amostra. Com o desgaste das escovas ao longo do experimento, pelo uso e realização dos procedimentos de limpeza e desinfecção, observou-se desprendimento das cerdas e exposição do fio metálico trançado que as prendia. Nessas condições, ao contrário do que se esperava, verificou-se a obtenção de maiores quantidades de muco, sugerindo a necessidade de estudo e desenvolvimento de materiais mais apropriados para esta finalidade.

ala de HAPPONEN et al. (1998) por meio da atribuição de escores numéricos aos parâmetros qualitativos de avaliação da densidade de colonização bacteriana permitiu a comparação de médias e evidenciação das diferenças entre as regiões gástricas. Dessa forma, esta inserção de escores apresenta-se como uma possibilidade para estudos de avaliação da densidade de colonização por helicobactérias na mucosa gástrica de cães.

A maior eficiência da técnica de citologia em detectar bactérias do gênero *Helicobacter* constatada neste estudo está em consonância com o obtido por MOSTAGHNI et al. (2008) ao compará-la com o TRU e cortes histológicos corados por HE em pacientes humanos dispépticos. Somado a isso a ausência de alterações macroscópicas seguidas à realização do exame e a possibilidade de diagnóstico rápido e acompanhamento de lesões gastrointestinais (CONRAD et al., 2012), pode se dizer que é uma técnica cujo emprego também se faz relevante na rotina endoscópica de cães, como CUSTÓDIO (2005) recomenda para pacientes humanos.

A discordância verificada entre a citologia e os demais testes (Tabela 1), principalmente no antro gástrico, pode ser atribuída à baixa sensibilidade do TRU (29,16%) e aos cortes histológicos corados por HE (26,31%), GI (44,44%) e WS (50,00%) (Tabela 2) em detectar os micro-organismos em baixas DMC. Esta observação pôde ser comprovada quando verificou-se no antro gástrico a menor DMC ($1,25 \pm 0,94$) na comparação com a DMC do corpo ($p=0,0004$) e fundo do estômago ($p=0,0003$) (Tabela 3).

Segundo FLETCHER et al. (1991), incidência de falso negativos é elevada quando a sensibilidade do teste é baixa. No TRU, estes resultados são verificados nos pacientes com hemorragia digestiva, em uso de inibidores da bomba de prótons e após tratamento com antibióticos, condições não verificadas no presente estudo. No entanto, a ampla distribuição da bactéria associada a baixa densidade de colonização podem não ter compreendido o mínimo de 10^4 micro-organismos necessários para tornar o teste positivo, valor definido por MEGRAUD (2003). À histologia, resultados falso-negativos podem ter ocorrido por interferência da qualidade das amostras de biopsia, baixa concentração de bactérias e distribuição irregular na superfície epitelial (KHULUSI et al., 1995).

As regiões de colonização bacteriana verificadas entre as regiões gástricas se assemelham a distribuição de helicobactérias identificadas por VIEIRA (2004), que constatou, por meio do TRU em cães necropsiados, maior número de reações fortemente positivas no corpo e fundo do estômago, sugerindo que, quanto maior o número de micro-organismos na amostra maior a produção de amônia para a revelação do teste, o que determinou a viragem de cor nestas regiões em até três horas.

As prevalências obtidas para o TRU e avaliação histológica corada por HE foram semelhantes às verificadas por MOUTINHO (2007), o qual obteve nestes testes frequências respectivas de 22% e 26% no antro, 88% e 62% no corpo e 90% e 82% no fundo gástrico. SOUZA et al. (2004) obtiveram prevalência de 99% em ambos os testes em cães recém chegados ao biotério, sem particularizar a região gástrica. Os autores atribuíram a elevada prevalência à ingestão de alimentos deteriorados e, ao convívio dos animais com pessoas de baixo padrão sócio-econômico previamente a chegada ao biotério.

PRACHASILPCHAI et al. (2007) verificaram prevalências de HSP no estômago de cães submetidos a necropsia de 17,3%, 46,7%, 30,7% e 10,7%, respectivamente, para exames histológico corado por HE, WS, imunistoquímica e reação em cadeia da polimerase (PCR). Não foi identificadas diferenças entre PCR - WS e PCR - IHC, o que foi atribuído a inadequada qualidade do espécime de biopsia. Ainda assim, como no presente estudo, a identificação por WS se mostrou mais sensível que por HE.

O maior índice de positividade da histologia corada por WS nas três regiões gástricas pode ser atribuído a metodologia do teste, que evidencia de cor escura, devido a impregnação por prata, as bactérias presentes no tecido, que se cora em amarelo ou marrom-claro (PIRES, 2004), facilitando a identificação dos micro-organismos.

A despeito de WRIGHT & KELLY (2006) não indicarem a utilização de coloração especial para a pesquisa de HP, verificou-se no presente estudo que para a pesquisa de bactérias do gênero *Helicobacter* no estômago de cães a prevalência e sensibilidade de detecção à histologia corada por WS e GI foram superiores àquelas para HE nas três regiões gástricas, concordando com



Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

RO (2001), que recomendam a utilização de técnicas especiais.

Conclusão

A técnica de citologia é a mais eficiente em detectar a presença de bactérias do gênero *Helicobacter* na mucosa gástrica de cães, seguida da histologia corada por Warthin-Starry. Independente da técnica empregada, os espécimes devem ser colhidos na região do fundo gástrico.

1. BRESLIN, N. P.; OLMORAIN, C. A. Noninvasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a review. **Helicobacter**, Oxford, v. 2, n. 3, p. 111-117, 1997.
2. BROWN, K. E.; PEURA, D. A. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterology Clinics of North America**, Philadelphia, v. 22, n. 1, p. 105-15, 1993.
3. CARVALHO, G. D.; PINTO, P. S. A.; VILORIA, M. I. V.; NERO, L. A. Aspectos zoonóticos de *Helicobacter spp.* **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, n. 4, p. 121-130, 2008.
4. CONRAD, R.; CASTELINO-PRABHU, S.; COBB, C.; RAZA, A. Role of cytopathology in the diagnosis and management of gastrointestinal tract cancers. **Journal of Gastrointestinal Oncology**, Hong Kong, v. 3, n. 3, p. 285-298, 2012.
5. CORDEIRO, F. T. M.; MAGALHÃES, A. F. N.; PROLLA, J. S.; QUILICI, F. A. **Endoscopia digestiva**. Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. 3. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2000. 713 p.
6. CUSTÓDIO, R. O. **Identificação do *Helicobacter pylori* pela citologia do escovado gástrico. Análise comparativa com o método histológico.** 2004. 38f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical). Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
7. CUTLER, A. F.; HAVSTAD, S.; MA, C. K.; BLASER, M. J.; PEREZ-PEREZ, G. I.; SCHUBERT, T. T. Accuracy of invasive and noninvasive tests do diagnose *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 109, n. 1, p. 109-136, 1995.
8. FLATLAND, B. *Helicobacter* infection in humans and animals. **Compendium**, Yardley, v. 24, n. 1, p. 688. 698, 2002.
9. FLETCHER, R. H.; FLETCHER, S. W.; WAGNER, E. H. **Epidemiologia clínica: elementos essenciais.** 3.ed. Porto Alegre: Artes Médicas. 1991. 197p.

SAARI, S.; KARJALAINEN, M.; HÄNNINEN, M.

L.; JALAVA, K.; WESTERMARCK, E. Detections and effects of helicobacters in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 213, n. 12, p. 1767-1774, 1998.

11. HAPPONEN, I.; SAARI, S.; CASTREN, L.; TYNI, O.; HÄNNINEN, M. L.; WESTERMARCK, E. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric Helicobacter-like organisms in dogs and cats. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 115, n. 2, p. 117. 127, 1996.
12. HOEFEL, H. Microbiologia e endoscopia. In: MULLER, S.; LAGEMANN, R. C. **Enfermagem em endoscopia digestiva**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2002. cap.12, p.233-241.
13. KHULUSI, S.; MENDALL, M. A.; PATAL, P.; LEVY, J.; BADVE, S.; Northfield TC 1995. *Helicobacter pylori* infection density and gastric inflammation in duodenal ulcer and non-ulcer subjects. **Gut**, London, v. 37, n. 3, p. 319-324, 1995.
14. LECOINDRE, P.; CHEVALLIER, M.; PEYROL, S.; BOUDE, M.; FERRERO, R. L.; LABIGNE, A. Gastric helicobacters in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, London, v. 2, n. 1, p. 19-27, 2000.
15. MÉGRAUD, F. When and how does *Helicobacter pylori* infection occur? **Gastroentérologie Clinique et Biologique**, New York v. 27, n. 2, p. 374-379, 2003.
16. MONTEIRO FILHO, G. **Segredos da estatística em pesquisas científicas**. Goiânia: Vieira, 2004. 118p.
17. MOSTAGHNI, A. A.; AFARID, M.; EGHBALI, S.; KUMAR, P. Evaluation of brushing cytology in the diagnosis of *Helicobacter pylori* gastritis. **Acta Cytologica**, Chicago, v. 52, n. 5, p. 597-601, 2008.
18. MOUTINHO, F. Q.; THOMASSIAN, A.; WATANABE, M. J.; SUZANO, S. M. C. SEQUEIRA, J. L. Prevalência de helicobactérias e alterações na mucosa

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e

Zootecnia, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 1080-1083, 2007.

19. NEIGER, R.; SIMPSON, K. W. Helicobacter infection in dogs and cats: facts and fiction. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 14, n. 1, p. 125-33, 2000.
20. PIRES, M. A.; TRAVASSOS, F. S.; GARTNER, F. **Atlas de patologia veterinária**. Lisboa: Lidel, 2004. p.212.
21. PRACHASILPCHAI, W.; NUANUALSUWAN, S.; CHATSUWAN, T.; TECHANGAMSUWAN, S.; WANGNAITHAM, S.; SAILASUTA, A. Diagnosis of *Helicobacter spp.* infection in canine stomach. **Journal of Veterinary Science**, Suwon, v. 8, n. 2, p.139-145, 2007.
22. QUIROGA, A. L.; CID, P. U.; MUÑOZ, V. M.; VILLANUEVA, J. T.; CANCINO, A. G. Relationship between grade of contact dog-owner and the helicobacterias on gastric mucosa. **Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia**, Maracaibo, v. 19, n. 5, p. 455-459, 2009.
23. SHABESTARI, A. S. L.; JAMSHIDI, S.; MOHAMMADI, M.; SOROUSH, M. H.; BAHADORI, A.; OGHALAIE, A. Detection of atypical cultivable canine gastric *Helicobacter* strain and its biochemical and morphological characters in naturally infected dogs. **Zoonoses and Public Health**, Berlin, v.57, n.4, p.244-248, 2010.
24. SHERDING, R. G.; JOHNSON, S. E.; TAMS, T. R. Esophagoscopy. In: TAMS, T. R. **Small animal endoscopy**. St. Louis: Mosby, cap. 4., p. 39-96, 1999 Cited In: BEHLE, L. **Avaliação videoendoscópica e histológica da mucosa gástrica de cães da raça Poodle Toy e sem raça definida submetidos ao tratamento experimental com meloxicam**. 2008. 76f. Dissertação. (Mestrado em Medicina Veterinária) . Escola de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
25. SOUZA, M. L.; KOBAYASI, S.; RODRIGUES, M. A. M.; SAAD-HOSSNE, R.; NARESSE, L. E. Prevalência de *Helicobacter* em cães oriundos do biotério

- Gradual de São Paulo (UNESP) Botucatu. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 19, n. 5, p. 565-570, 2004.
26. STRAUSS-AYALI, D.; DEL PIERO, F. Histological and immunohistochemical detection of different *Helicobacter* species in the gastric mucosa of cats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 13, n. 1, p. 3-12, 2001.
27. TRAKARNVANICH, V. Methylene blue staining of gastric tissue for the identification of *Helicobacter pylori*. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 38, n. 1, p. 78-81, 2007.
28. VIEIRA, F. T. **Frequencia e distribuição de *Helicobacter spp* na mucosa gástrica de cães**. 2004. 66f. Dissertacao (Mestrado em Medicina Veterinaria), Escola de Medicina Veterinaria, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
29. WRIGHT, C. L.; KELLY, J. K. The use of routine special stains for upper gastrointestinal biopsies. **The American Journal of Surgical Pathology**, New York, v. 30, n. 3, p. 357-361, 2006.

Dentre suas diversas indicações, no presente estudo a endoscopia foi empregada como recurso de investigação direta das características da mucosa e do lúmen gástrico, e ainda possibilitou a obtenção de espécimes teciduais para posterior complementação da investigação em nível laboratorial e elucidação do diagnóstico, sem incrementar riscos ao procedimento anestésico, demonstrando sua segurança e inúmeras aplicabilidades.

Entretanto, por se tratar de uma técnica relativamente nova, introduzida na medicina veterinária nos anos setenta, aplicada inicialmente na medicina equina e passando a ser utilizada em pequenos animais apenas nos anos oitenta, verifica-se ainda elevado custo de aquisição e manutenção do equipamento e acessórios e desconhecimento das principais indicações da técnica.

A ausência de trabalhos com parâmetros padronizados de avaliação macroscópica e histológica, como empregado neste estudo, a partir das recentes orientações do Grupo de Padronização Gastrointestinal Internacional da Associação Mundial de Veterinários de Pequenos Animais, bem como a ausência de estudos acerca das repercussões gástricas da administração do tetracloreto de carbono às espécies de laboratório, independente da via de administração, dificultaram a discussão e o estabelecimento de comparações, por outro lado permitiram o ineditismo exigido pelo curso em questão.

Para o conhecimento dos efeitos do contato direto do tóxico com a mucosa seria imprescindível a realização das avaliações gastroscópicas e histológicas minutos após a administração do tetracloreto de carbono. Por outro lado, para a elucidação da repercussão isolada da hepatite aguda sobre a mucosa gástrica seria necessária a introdução do tóxico no organismo por outras vias de administração. Desta forma, a quantificação da contribuição individual de cada uma dessas vias para a manifestação das alterações gastroscópicas e histológicas observadas compreende tema para estudos futuros.

Além disso, a complexa patogênese das gastropatias que se desenvolvem na insuficiência hepática está associada a outros mecanismos que se manifestam de forma concomitante, como o aumento da secreção ácida gástrica por diminuição da degradação hepática de gastrina e histamina, que

ridade da mucosa gástrica e se somam as alterações por contato direto com o tóxico e secundária a hepatite. Portanto, também precisam ser consideradas e elucidadas.

Para a pesquisa de bactérias do gênero *Helicobacter* nas regiões do antro, corpo e fundo gástricos dos cães a técnica de citologia se mostrou a mais eficiente. Considerando ainda a facilidade de execução da técnica, baixo custo de aquisição da pinça-escova e disponibilidade de laboratórios para processamento e leitura das lâminas, são fatores que favorecem sua inclusão na rotina de exames para a detecção desses micro-organismos na mucosa gástrica de cães.

Na comparação entre o TRU e cortes histológicos corados verificou-se que os cortes corados por Warthin-Starry se apresentou como técnica mais sensível, porém, por se tratar de um método especialmente laborioso, de custo mais elevado e que propicia resultado semelhante ao obtido com o emprego de técnica de execução mais simples, a citologia, atualmente não é realizada como exame de rotina. Entretanto, sua superioridade em relação às outras técnicas e potencial zoonótico do agente por ela identificado justificam seu emprego, especialmente nas ocasiões em que a obtenção de fragmentos de biopsia para realização de estudo morfológico se fizer indispensável.

O conhecimento das técnicas de detecção de helicobactérias empregadas no presente estudo propiciarão ou colaborarão para adequada conduta diagnóstica se comprovada a relação entre a presença desses micro-organismos e o desenvolvimento de doença gástrica na espécie canina e se identificada infecção natural em cães por cepas até então patogênicas apenas para o homem, o que é eminente, a saber da recente identificação de pequenas helicobactérias no estômago de cães e a comprovação de maiores densidade de colonização nos cães de contato mais próximo de seus proprietários.

Ao final, acreditamos ter contribuído com novas informações notadamente relacionadas à repercussão gástrica da administração oral de tetracloreto de carbono a cães, aplicação da técnica de citologia a animais desta espécie, identificação da técnica mais sensível em detectar a presença de helicobactérias na mucosa gástrica desses animais e divulgação e demonstração das vantagens e versatilidade da técnica de endoscopia, motivando seu emprego na rotina como exame complementar de investigação do trato gastrointestinal.