

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

Emerson Legatti¹
Sabrina de Almeida Moreira²
Carolina Quarterone³
Luiz Carlos Vulcano⁴
Sheila Canavese Rahal⁵
Luiz Eduardo Naresse⁶

RESUMO

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

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

¹ Mestrado em Medicina Veterinária, Endoscopia Veterinária FMVZ-UNESP-Botucatu. Contato principal para correspondência.

² Doutorado em Medicina Veterinária, Enfermidades Infecciosas dos Animais, FMVZ-UNESP-Botucatu

³ Mestrado em Anestesiologia, FMVZ-UNESP-Botucatu.

⁴ Professor Titular do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ-UNESP-Botucatu

⁵ Professora Titular Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, FMVZ-UNESP-Botucatu

⁶ Professor Livre Docente do Departamento de Cirurgia da FMB-UNESP-Botucatu

USE AND CONTRIBUTION OF CHROMOENDOSCOPY WITH LUGOL, INDIGO CARMINE AND METHYLENE BLUE IN THE UPPER DIGESTIVE TRACT OF DOGS

ABSTRACT

Chromoendoscopy is defined as the topical application of aqueous dye in the gastrointestinal tract mucosa. These dyes have the function of showing early or discrete changes which may go unnoticed in conventional examination. Therefore, this procedure enables altered tissue collection or monitoring of pre-existing diseases. In Veterinary Medicine, there were no studies that have used this technique, but there are many conditions in which it can be employed as research or monitoring of esophagitis (such as humans Barrett's esophagus), erosive or polypoid gastric lesions and duodenal injuries. In the present study, ten adult dogs underwent endoscopy (EGD), followed by chromoendoscopy (CRE) and biopsy of esophagus, stomach (fundus, body and pyloric antrum) and duodenum, when available. Biopsies were sent for histopathology for identification of presence or absence of lesions in the collected samples. The aim of this study was to describe the technique of chromoendoscopy in dogs, evaluate its effectiveness on the identification and delineation of lesions in the upper digestive tract of dogs and correlate endoscopic findings before and after application of the technique with histopathologic results. The correlation between EGD and CRE by histopathology (gold standard) was evaluated using the Kappa test. The results showed significant agreement in CRE of esophagus with accuracy of 83.33%. Moderate agreement in conventional endoscopy (CE) of esophagus and CRE of fundus, body and pyloric antrum were demonstrated with an accuracy of 83.33%, 70%, 70% and 70% respectively. Fair agreement was found in CRE of stomach, with an accuracy of 70%. There was poor agreement in EGD of pyloric antrum and EGD and CRE of duodenum, with an accuracy of 50%, 40% and 40% respectively. There was no correlation between the tests in the EGD of gastric fundus, gastric body and stomach, with an accuracy of 40%, 40% and 43.33% respectively. CRE is slightly difficult to perform but is effective to guide biopsies of esophagus and stomach.

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

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

RESUMEN

La cromoendoscopia se define como la aplicación tópica de colorante acuoso en la mucosa del tracto gastrointestinal. Estos colorantes tienen la función de mostrar cambios tempranos o discretos que pasan sin ser notados para el examen convencional, lo que permite la colecta de tejidos alterados o seguimiento de las enfermedades pre existentes. En medicina veterinaria, no fueron encontrados estudios que han utilizado esta técnica, pero hay muchas situaciones en las que puede ser empleado como la investigación o monitoreo: esofagitis (tales como esófago de Barrett en los seres humanos), lesiones erosivas gástricas o polipoidis y lesiones duodenales. Este trabajo se realizó en diez animales adultos, endoscopia (EGD) seguido por cromoendoscopia (CRE) y la recolección de biopsia del esófago, estómago (fondo, el cuerpo y antro pilórico) y el duodeno cuando esté disponible. Las biopsias fueron enviadas para histopatología e identificación de la presencia o ausencia de daños en el material recogido. El

objetivo de este estudio fue demostrar la técnica de la cromoendoscopia en perros, evaluar su eficacia en la identificación y la delimitación de las lesiones en el tracto digestivo superior de estos animales y correlacionar los hallazgos endoscópicos antes y después de la aplicación de la técnica a los resultados histopatológicos. La correlación entre la EGD y la CRE por histopatología (patrón oro) se evaluó mediante la prueba de Kappa. Los resultados mostraron un acuerdo significativo en la CRE esófago con una precisión de 83,33%. Acuerdo Moderado en la endoscopia convencional EGD del esófago con una precisión de 83,33% y CRE del fundus, el cuerpo y el antro pilórico con una precisión de 70%. Acuerdo razonable en CRE estómago con una precisión de 70%. Concordancia moderada en EGD de antro y EGD y CRE de duodeno con una precisión de 50%, 40% y 40% respectivamente. No hubo correlación entre los ensayos en el EGD de fondo, el cuerpo y el estómago con una precisión de 40%, 40% y 43,33%, respectivamente. La CRE tiene un grado de dificultad moderado en su aplicación y es eficaz en la dirección de cosecha de las biopsias del esófago y el estómago.

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

INTRODUÇÃO

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

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

Lesões discretas, ou mesmo imperceptíveis, que ocorrem no trato gastrintestinal, provocadas, por exemplo, pela esofagite de refluxo, podem ser identificadas precocemente na medicina humana por cromoendoscopia (CRE) e este uso pode se estender para medicina veterinária.

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

Vários corantes podem ser utilizados e cada um tem uma ação específica sobre as células do trato gastrintestinal. A escolha do corante é realizada de acordo com a região que será avaliada, associada à suspeita clínica do paciente. Em resumo, o corante escolhido é aquele que poderá nos dar mais informações sobre as células que serão examinadas (7).

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

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

absortivas do epitélio. Sendo assim, a CRE fornece informações diagnósticas adicionais a respeito da morfologia e fisiopatologia da superfície epitelial do órgão examinado (1)

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

O objetivo deste trabalho foi demonstrar a aplicação da técnica de cromoescopia em cães, utilizando lugol, índigo carmin e azul de metileno e avaliar sua eficácia quanto à identificação e delimitação de lesões no trato digestório superior destes animais correlacionando os achados endoscópicos pré e pós-aplicação da técnica com os resultados histopatológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Dez cães adultos (seis fêmeas e quatro machos) foram submetidos à EDA seguida de CRE e biópsia de esôfago, estômago e duodeno, quando acessível. Previamente, foi realizada avaliação física, hemograma completo e tempo de coagulação de todos os animais do estudo.

A EDA, a CRE e as biópsias foram realizadas utilizando videogastroscoópio PENTAX¹, processadora de imagem PENTAX², monitor SONY³, cateter tipo spray OLYMPUS⁴ e pinça de biópsia OLYMPUS⁵. As imagens e vídeos foram capturados do monitor diretamente para computador pessoal por meio de placa de captura de vídeo EASYCAP.

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

O exame endoscópico do trato digestório superior seguiu o posicionamento e a rotina de inspeção segundo técnica descrita por Guilford (2) e Tams (8). De acordo com a técnica, o animal foi posicionado em decúbito lateral esquerdo para facilitar o exame do piloro, já que este posicionamento traz o piloro para o topo do abdome, o que auxilia o escoamento de líquido para o fundo gástrico. Outra vantagem desta posição é retirar, de cima do piloro, o peso do corpo e do antro gástricos, facilitando assim a passagem para o duodeno.

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

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

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

² Modelo EPM3500

³ Modelo NO.LMD-1410 LCD Monitor

⁴ Modelo PW-6P-1

⁵ Modelo FB 231K e FB 241K

Quadro 1. Corantes utilizados em cromoendoscopia

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

Fonte: adaptado de Fagundes (1).

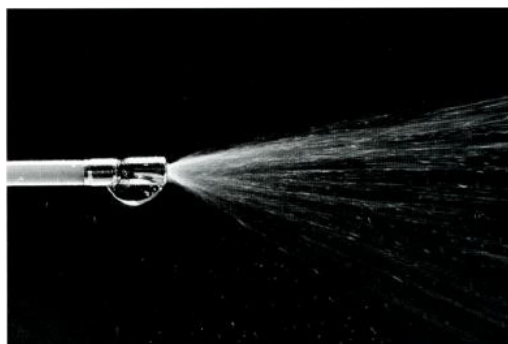


Figura 1. Cateter tipo *Spray*, Sorbi e Gostout (9).

O Iugol foi o corante de escolha para aplicação na mucosa esofágica, devido a sua interação com o conteúdo glicogênico das células do epitélio estratificado não queratinizado presentes neste órgão (7). Uma particularidade histológica esofágica nos cães é que o epitélio estratificado pavimentoso é queratinizado e possui aberturas dos canais das glândulas esofágicas, com cerca de 1 mm (10).

Após instilação de água na luz esofágica para retirada de muco e secreções, sem a necessidade do uso de mucolíticos, instilou-se de 10 a 50 ml (média de 20 ml) da solução de Iugol a 2% por meio de cateter *spray*. A instilação do corante iniciou-se próximo a junção esofagogástrica com progressão retrógrada até o esôfago proximal. Dois minutos após sua aplicação, a mucosa foi lavada com água para retirada do excesso e então avaliada para identificação de áreas iodo-claras ou iodo-negativas que foram biopsiadas (7,11).

O índigo carmim, corante de escolha para aplicação na mucosa gástrica, não penetra no meio intracelular e permite destacar os contornos e melhor salientar a topografia da mucosa. Por não ser absorvido e ser rapidamente eliminado, é praticamente inócuo (7). Utilizando a forma direta de aplicação do corante, sem a necessidade prévia do uso de mucolíticos, instilaram-se 20 a 30 ml do corante a 0,2% em toda mucosa gástrica. Por meio de cateter *spray*, iniciou-se a instilação na região do antro-pilórico com progressão retrógrada para o corpo e, finalmente, na região fúndica. As áreas destacadas em azul-violeta foram biopsiadas (1,7).

Por último, o azul de metileno, corante utilizado na mucosa duodenal quando acessível ao exame endoscópico, é absorvido e acumulado no citoplasma das células da mucosa do intestino delgado e do cólon. Utilizado, também, para realçar o epitélio de Barrett (metaplasia

intestinal especializada) uma vez que não é absorvido pelas células escamosas do esôfago nem pela mucosa gástrica (7).

Após prévia instilação de água para retirada do excesso de muco, instilaram-se 20 ml do corante na concentração de 0,5% por meio de cateter *spray*. A instilação iniciou-se na porção duodenal distal com progressão retrógrada até a primeira porção duodenal. Em seguida, realizou-se lavagem da mucosa com água (média de 50 ml) até o padrão da coloração ficar estável. Finalmente, a mucosa foi avaliada para identificação de áreas coradas em azul, sendo que as áreas não coradas foram alvo das biópsias (1,7).

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

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

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

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

As amostras foram colocadas sobre um retângulo de papel filtro e depois em recipiente contendo solução de formalina neutra tamponada a 10%. O frasco foi identificado com o nome do animal, data e região coletada (12). As amostras permaneceram em formalina entre 24 e 48 horas no máximo, para fixação e, em seguida, foram encaminhadas ao Serviço de Patologia onde se realizou procedimento padrão para inclusão das amostras em parafina. Após esse procedimento, os cortes realizados foram de quatro a cinco micrômetros, as lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina e examinadas sob microscopia de luz por um patologista veterinário. A correlação entre amostras colhidas e avaliadas é apresentada na Tabela 2.

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

A concordância, a reprodutibilidade e o grau de significância entre os exames foram avaliados pelo teste de Kappa ($p < 0,05$). O valor de Kappa varia de 0 a 1 onde, quanto mais próximo o resultado for da unidade, maior será a concordância entre os testes. Para interpretação da concordância e da reprodutibilidade utilizaram-se os valores indicados por Landis e Koch (13) e Rosner (14).

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

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

⁽¹⁾ – Avaliação e colheita de biópsia duodenal realizada em apenas cinco animais.

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

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

RESULTADOS

Esôfago

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

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

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

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

Fundo gástrico

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

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

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

Corpo gástrico

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

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

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

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

Antro pilórico

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

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

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

Duodeno

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

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

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

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

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

DISCUSSÃO

A técnica de cromoendoscopia (CRE) demonstrou-se de fácil aplicação como relatado por Fagundes (1), mas necessita de habilidade, ao menos mediana, no manejo do equipamento endoscópico para que seja realizada com eficiência.

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

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

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

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

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

As duas técnicas apresentaram os mesmos valores de especificidade e porcentagem de falso positivo na região do corpo gástrico.

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

Muitas lesões discretas realmente foram destacadas e lesões perceptíveis à endoscopia convencional foram mais bem delimitadas.

As desvantagens no uso da CRE podem estar relacionadas à escolha inadequada do corante frente ao histórico do animal, à dificuldade de aquisição dos corantes e no custo elevado do cateter tipo *spray* adequado para realização da técnica.

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

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

Algumas regiões destacadas pelo índigo carmim não apresentaram lesão à histopatologia, fato demonstrado pelo resultado falso positivo, por exemplo, na região de antro piloro (60%). Outras regiões que o padrão da coloração foi homogêneo apresentaram lesões, falso negativo elevado na região fúndica e moderado, no corpo gástrico.

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

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

CONCLUSÕES

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

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

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

O cateter *spray* é um item relativamente caro, mas necessário para adequada aplicação da técnica, e a aquisição dos corantes foi difícil.

Na tentativa de contornar os problemas encontrados neste estudo e confrontar os resultados obtidos, sugere-se aumentar o número de animais avaliados, elevando-se, assim, a possibilidade de se encontrar lesões diferentes das encontradas nesse estudo.

REFERÊNCIAS

1. Fagundes RB. Cromoendoscopia de esôfago e estômago. In: Magalhães AF, Cordeiro FT, Quilici FA, Machado G, Amarante HMBS, Prolla JC, et al. Endoscopia digestiva diagnóstica e terapêutica. Rio de Janeiro: Revinter; 2005. p.106-19.
2. Guilford WG. Upper gastrointestinal endoscopy. In: McCarth TC. Veterinary endoscopy for the small animal practioner. Beaverton: Elsevier; 2005. p.279-321.
3. Fallin EA, Leib MS, Trevor P. Endoscopy case of the month. Vet Med. 1996;91(3):41-50.
4. Lecoindre P, Chevallier M, Peyrol S, Boude M, Ferrero RL, Labigne A. Pathogenic role of gastric Helicobacter sp in domestic carnivores. Vet Res. 1997;28(3):207-15.
5. Araújo IC, Ferreira AM. Infecção por Helicobacter spp em gatos. Clín Vet. 2002;7(37):41-50.
6. Benevento S, Ferreira AR. Estudo Histopatológico das Gastropatias caninas e felinas. Rev Bras Med Vet. 2002;24(2):81-4.
7. Ratilal PO, Pires EC, Deus JR, Novais LA. Cromoendoscopia : porquê colorir ? GE, J Port Gastreenterol. 2002;9:340-6.
8. Tams TR. Gastroscopy. In: Small animal endoscopy. Missouri: Elsevier Mosby; 2011. p.97-172.
9. Sorbi D, Gostout CJ. Polyp identification and marking : chromoscopy , tattooing , and clipping. Tech Gastrointest Endosc. 2000;2(1):2-8.
10. Washabau RJ, Day MJ. Esophagus. In: Canine & feline gastroenterology. 1st ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2013.

11. Moreira EF, Oliveira LA, Pinto PRA, Albuquerque W, Carvalho SD, Coelho JCCGP. Projeto Diretrizes: Cromoscopia com lugol na detecção do câncer de esôfago [Internet]. São Paulo: SOBED; 2008 [cited 2013 May 24]. p.17. Available from: http://www.sobed.org.br/web/arquivos_antigos/pdf/diretrizes/Cromoscopia.pdf.
12. Valentine BA. Endoscopic biopsy handling and histopatology. In: McCarthy TC. Veterinary endoscopy for the small animal practioner. 3rd ed. St Louis: Elsevier Saunders; 2005. p.31-47.
13. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics [Internet]. 1977 Mar [cited 2013 May 24];33(1):159-74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/843571>.
14. Rosner B. Fundamentals of biostatistics [Internet]. 7th ed. Boston, MA: Brooks/Cole; 2011 [cited 2013 Jul 9]. Available from: http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=-CQtWiJL0cC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Fundamentals+of+Biostatistics&ots=W1J2ti_vbw&sig=MA2VQGBOP_22q7z4upVEbRCYhQA.

Recebido em: 24/09/2013

Aceito em: 29/04/2014