

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS ATRAVÉS DA IMAGEM ULTRA-
SONOGRÁFICA E BIÓPSIA PERCUTÂNEA GUIADA DO BAÇO DE
CÃES INFECTADOS POR *Leishmania (L.) chagasi* NO MUNICÍPIO DE
SÃO LUÍS – MA.

KEYLA DOS SANTOS GUIMARÃES

São Luís-MA

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

KEYLA DOS SANTOS GUIMARÃES

ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS ATRAVÉS DA IMAGEM ULTRA-
SONOGRÁFICA E BIÓPSIA PERCUTÂNEA GUIADA DO BAÇO DE CÃES
INFECTADOS POR *Leishmania (L.) chagasi* NO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS –
MA.

Dissertação apresentada como
requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre em Ciências
Veterinárias.

Área: Sanidade Animal

Orientador: Prof^a. Dr^a. Alana Lislea
de Sousa

São Luís - MA

2008

Guimarães, Keyla dos Santos

Aspectos anatomopatológicos através da imagem ultra-sonografia e biópsia percutânea guiada do baço de cães infectados por *Leishmania (L.) chagasi* no Município de São Luis - MA / Keyla dos Santos Guimarães. – São Luís, 2008.

52f.

Dissertação (Mestrado) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2008.

Orientadora: Profa. Alana Lislea de Sousa

1. leishmaniose 2. biópsia guiada 3. cães 3. baço 4. ultra –som
I.Título

CDU: 636.7:616.993.161-076(812.1)

Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias aprovada em ___/___/ 2008
pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof^a. Dr^a. Alana Lislea de Sousa

Prof^a. Dr^a. Flor de Maria Pires Mendes

Prof. Dr. Porfírio de Candanedo Guerra

José Roberto e Ana Carolina pela paciência,
conforto e incentivo durante esta jornada.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e pela oportunidade diária de aprendizagem.

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) pela oportunidade de realizar este curso de pós-graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Maranhão (FAPEMA), pela concessão da bolsa de apoio técnico.

À Prof^a. Dr^a. Alana Lislea de Sousa, pela confiança e orientação desta dissertação.

À Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Abreu Silva, pela valiosa ajuda na leitura das lâminas.

Ao Prof. Dr. Rudson Almeida de Oliveira, pelo auxílio com a estatística.

À secretária Caroline Romão.

Aos colegas de mestrado, pela agradável convivência e em especial a Edith, Manuel e Nordman, pelo apoio e conforto durante toda a elaboração desta dissertação.

À aluna de graduação Nathália dos Santos Martins, pela colaboração valorosa na coleta dos dados desta pesquisa.

Muito obrigada!

ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS ATRAVÉS DA IMAGEM ULTRA-SONOGRÁFICA E BIÓPSIA PERCUTÂNEA GUIADA DO BAÇO DE CÃES INFECTADOS POR *Leishmania (L.) chagasi* NO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS – MA.

Mestranda: Keyla dos Santos Guimarães

Orientadora: Alana Lislea de Sousa

RESUMO

A leishmaniose é uma antropozoonose causada por um protozoário, parasita intracelular, do gênero *Leishmania*, acometendo o homem e cães em todo o mundo, sendo estes últimos descritos como reservatórios naturais dessa enfermidade. O baço é um dos órgãos hematopoéticos e imunocompetentes envolvidos na leishmaniose visceral. Logo, com o objetivo de descrever os aspectos anatomopatológicos por meio da imagem ultra-sonográfica do baço de cães portadores de leishmaniose, e testar a eficiência da técnica da biópsia percutânea guiada como método minimamente invasivo na complementação diagnóstica dessa doença, foram estudados 30 cães adultos, sem distinção de idade ou sexo, subdivididos em dois grupos de 15 animais entre soropositivos e soronegativos para *Leishmania (L.) chagasi*, provenientes da cidade de São Luís-MA. Ao analisar a ultra-sonografia do baço, tanto do grupo dos animais soropositivos quanto dos soronegativos para a leishmaniose, foi possível identificar e caracterizar a imagem quanto ao tamanho, contorno, arquitetura e ecotextura de parênquima. Constatou-se então que o exame sonográfico é um bom método de avaliação do baço e, como guia para a biópsia, revelou-se numa ferramenta útil e segura, podendo oferecer material satisfatório à avaliação tecidual e contribuir para a identificação do parasito, bem como de alterações histológicas sugestivas de leishmaniose.

Palavras-chave: leishmaniose, biópsia guiada, cães, baço, ultra-som.

ANATOMOPATHOLOGY ASPECTS THROUGH ULTRASOUND IMAGE AND PERCUTANEOUS ULTRASOUND-GUIDED SPLEEN BIOPSIES OF *Leishmania (L.) chagasi* INFECTED DOGS CAPTURED IN SÃO LUÍS - MA

Mestranda: Keyla dos Santos Guimarães
Orientadora: Alana Lislea de Sousa

ABSTRACT

Leishmaniosis is an antropozoonosis caused by an intracellular protozoan parasite, that causes a wide spectrum of diseases in humans and dogs worldwide. In those areas, the dogs are described as natural reservoirs of the parasite. In visceral leishmaniasis, the spleen is one of the several hematopoietic and immunocompetent organs involved. The objective was to describe the anatomopathological aspects by ultrasonographic appearance of canine spleen with leishmaniose disease and to test the accuracy of the percutaneous ultrasound-guided biopsy technique with a not invasive method in the diagnostic complementation of this illness. 30 adult dogs have been studied, without age distinction or sex, subdivided in two groups of 15 animals between seropositive and seronegative for *Leishmania (L.) chagasi*, proceeding from São Luís-MA. Considering ultrasonographic findings of the spleen to the groups of the animals seropositive and seronegative was possible to identify and characterize the image however as for the size, contour, architecture and parenchyma echotexture. On the other hand the spleen ultrasound-guided biopsy in parenchyma revealed a useful safe and diagnostic tool, offering satisfactory sample to the tissue evaluation contributing for the identification of the parasite as well as of suggestive histological alterations of leishmaniose.

Key words: leishmaniasis, guided biopsy, dogs, spleen, ultrasound.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 01 – Imagem ultra-sonográfica do baço de cão soropositivo visualizando a largura (seta branca).....	37
Figura 02 - Imagem ultra-sonográfica do baço de cão soronegativo visualizando a largura (seta branca).....	38
Figura 04 – Lâmina de fragmento de baço de cão soropositivo. Observar a presença plasmócitos (setas). Corte histológico corado pela técnica de Hematoxilina-Eosina (H&E). 100X.....	41
Figura 03 – Fragmento de baço de cão soropositivo, observar a presença de formas amastigotas de Leishmania (seta). Corte histológico corado pela técnica de Hematoxilina-Eosina (H&E). 100X.....	41

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 01 – Sinais clínicos observados de animais soropositivos e soronegativos oriundos do Centro de Controle de Zoonoses de São Luís-MA, 2008.....	34
Tabela 02 – Aspectos da imagem ultra-sonográfica do baço de animais soropositivos e soronegativos oriundos do Centro de Controle de Zoonoses de São Luís-MA, 2008	36
Tabela 03 – Medidas (cm) da largura da imagem ultra-sonográfica do baço de animais soropositivos e soronegativos para leishmanioses procedentes do Centro de Controle de Zoonoses. São Luís-MA, 2008.....	37

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	
2.1. Leishmaniose visceral	17
2.2. Baço	
2.2.1. Anatomia e fisiologia do baço.....	23
2.2.2. Biópsia guiada por ultra-som.....	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	
3.1. Descrição da amostra	30
3.2. Equipamentos	
3.2.1. Ultra-sonografia.....	30
3.2.2. Equipamento de biópsia.....	30
3.3. Protocolo de exame ultra-sonográfico.....	31
3.4. Protocolo para biópsia por fragmento.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5. CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS	46
APÊNDICE.....	51
ANEXO.....	53

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose ainda continua sendo uma doença de grande multiplicação acometendo tanto ao homem, quanto aos animais e em especial os cães. Avanços científicos voltados aos métodos alternativos de diagnósticos têm buscado, neste contexto, a ultra-sonografia associada à biópsia percutânea guiada, pode ser usada na clínica como diagnóstico complementar, porque possibilita a visão de imagens dos órgãos envolvidos nesta enfermidade, a exemplo tem-se a retirada de fragmentos desses órgãos como o baço e fígado de forma minimamente invasiva, que favorecem o diagnóstico.

O agente causador da leishmaniose visceral é um protozoário, parasita intracelular, do gênero *Leishmania*, que acomete o homem e os cães em todo o mundo. Sua distribuição é ampla, ocorrendo na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e nas Américas. Foi descrita na América Latina em pelo menos 12 países, onde 90% desses casos ocorrem no Brasil, especialmente na Região Nordeste (BRASIL, 2003).

Em áreas endêmicas, os cães são descritos como reservatórios naturais do parasito e de grande importância na manutenção do ciclo da doença. Estudos têm demonstrado que grande parte dos cães infectados, não desenvolve sintomas da doença, dificultando assim o diagnóstico. Pode permanecer nos animais assintomáticos ao longo de sua vida ou mesmo desenvolver sintomatologia após períodos que variam de três meses a alguns anos.

Na leishmaniose visceral, o baço é um dos órgãos hematopoéticos e imunocompetentes envolvidos, tendo este ainda um importante papel na filtração do sangue, estudos têm investigado o envolvimento morfológico e até mesmo microvascular bem como, as modificações da população de células do baço em resposta ao parasitismo.

Em cães, as principais lesões dessa doença, já existente no Velho e no Novo Mundo, ocorrem nos órgãos mais ricamente parasitados, no caso: baço, fígado, linfonodos, medula óssea e a pele. O baço pode apresentar um tamanho normal, ligeiramente aumentado ou hipertrofiado. Neste órgão ocorre a diminuição do número de linfócitos e proliferação de macrófagos na bainha linfóide periarteriolar, hiperplasia folicular e aumento da polpa vermelha com agregados de macrófagos e células plasmáticas (MOURA, 2007).

Na literatura veterinária há poucos relatos no que se refere à aparência ultra-sonográfica das condições inflamatórias do baço. Acrescenta-se que na esplenomegalia ocorre com a combinação de hematopoiese extramedular, hiperplasia reticuloendotelial e esplenite plasmocítico-linfocítica, o grau de envolvimento dos três mecanismos varia com o agente etiológico e duração da doença. Nestas condições, aquele órgão se encontra aumentado com ecogenicidade normal ou diminuída, e a textura normal ou heterogênea. Agora, nos casos crônicos, aparece hiperecogênico, com ecotextura heterogênea e superfície lisa ou ligeiramente irregular, é uma alteração não específica que pode ser observada em muitas doenças. As condições que podem estimular essa resposta incluem: micose sistêmica; doença viral; hemoparasitoses e organismos como: *Leishmania spp* (SCHELLING, 1988).

Pela inexistência de padrão sonográfico e uma aparência específica para cada tipo celular, a cada lesão, torna-se necessária uma avaliação em conjunto das alterações encontradas no exame ultra-sonográfico, com o histórico do paciente, os sinais clínicos, os exames laboratoriais, para que haja um diagnóstico. E em alguns casos, com a avaliação citológica ou histopatológica do tecido, através da obtenção por biópsia aspirativa ou por fragmento (CARVALHO, 2004).

Apesar do exame ultra-sonográfico ser um método sensível na detecção de alterações em órgãos como o baço, pode não ser específico para uma determinada doença. Logo, para a obtenção de um diagnóstico, faz-se necessária a realização de cirurgia intervencionista, através ou não de biópsia guiada, proporcionando assim, uma avaliação citológica e histológica do tecido

esplênico fornecendo informações quanto à condição da doença detectada, exclusive a possibilidade de uma cirurgia posteriormente.

Pelo fato da leishmaniose visceral ser uma doença endêmica na Região Nordeste do Brasil, incluindo São Luís – MA além de apresentar um caráter de notificação compulsória, em função dos fatos apresentados, buscou-se descrever os aspectos anatomopatológicos por meio da imagem ultrasonográfica e da biópsia percutânea guiada do baço de cães infectados naturalmente por *Leishmania (L.) chagasi*, na cidade de São Luís, além de, avaliar as possíveis implicações dessa técnica.

REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Caracterização da Leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose emergente e reemergente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Acomete, além do homem, canídeos, felídeos, roedores e marsupiais, sendo transmitida por flebotomíneo (ALENCAR, et al., 1991). O agente etiológico da leishmaniose é um protozoário tripanosomatídeo, do gênero *Leishmania*, sendo a espécie *Leishmania Leishmania chagasi* de maior ocorrência no Brasil (FUNASA, 1996).

As leishmanioses são doenças parasitárias causadas por protozoários digenéticos pertencentes ao sub-reino Protozoa, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania* que acometem o homem e diferentes espécies de mamíferos silvestres e domésticos das regiões tropicais e subtropicais (MARZOCHI, 2001).

Apesar de divergências e de uma taxonomia não totalmente elucidada que às vezes apontam *L. infantum* e *L. chagasi* como a mesma espécie em função das semelhanças bioquímicas e moleculares. No complexo *Leishmania donovani*, são reconhecidas três espécies envolvidas na etiologia da doença a *Leishmania (Leishmania) donovani* e *Leishmania (Leishmania) infantum* no Velho Mundo e *Leishmania (Leishmania) chagasi* no Novo Mundo, incluindo o Brasil (MACHADO, 2007).

O primeiro caso de leishmaniose visceral foi relatado por Migone, em 1913, no Paraguai, em paciente que havia contraído a doença no estado do Mato Grosso do Sul (Brasil). No entanto, foi Penna (1934), quem iniciou os estudos sobre a distribuição geográfica da LV nas Américas, ao identificar formas amastigotas em cortes histológicos de fígado de indivíduos que morreram com suspeita de febre amarela. Após extensos estudos realizados

por Evandro Chagas e colaboradores no período de 1936 a 1939 a doença foi diagnosticada no homem e em cães (MARZOCHI et al., 1981).

A leishmaniose visceral, devido a sua incidência e alta letalidade, principalmente em indivíduos não tratados e crianças desnutridas, é também considerada emergente em indivíduos portadores da infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), tornando-se uma das doenças mais importantes da atualidade. Apresenta ampla distribuição, ocorrendo na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e nas Américas. Na América Latina a doença foi descrita em pelo menos 12 países, 90% dos casos no Brasil, especialmente Região Nordeste (BRASIL, 2003).

Até pouco tempo a LV era caracterizada como uma doença tipicamente rural e endêmica no nordeste. A partir da década de 80 a doença vem adquirindo uma mudança no perfil epidemiológico aparecendo como surto epidêmico na periferia de grandes centros urbanos como Fortaleza, São Luís, Teresina, Natal, Campo Grande, Belo Horizonte e Rio de Janeiro (SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997).

Guimarães et al. (2005), em estudos sobre a soroprevalência da leishmaniose visceral canina, em duas vilas de São José de Ribamar no Maranhão, demonstrou que nos animais avaliados aos sinais clínicos apresentados foram as lesões de pele, com mais frequência observadas e na das amostras de sangue coletadas para a realização de imunofluorescência, na grande maioria da população canina, que apresentava anticorpos contra *Leishmania* permanecia assintomática.

Para Deane & Deane (1954) muitos canídeos têm sido reconhecidos como principal reservatório de leishmaniose visceral no Novo Mundo. A partir disso, os cães, vêm sendo incriminados como o principal reservatório da doença para humanos (DEANE, 1956; TORREALBA, 1959). A prevalência das leishmanioses em cães em áreas endêmicas pode atingir 20 a 40% da

população. Acredita-se que em áreas com alta infecção em cães, a prevalência na população humana varie de um a dois por cento (SWENSON et al., 1988).

Nos cães os parasitos podem ser encontrados também em linfonodos periféricos e na pele. Contudo, uma alta sensibilidade tem sido atribuída ao diagnóstico parasitológico baseados em exame da medula óssea e do baço de cães com leishmaniose visceral (ASHFORD et al., 1995).

A leishmaniose visceral canina (LVC) é considerada uma doença imunomediada, visto que o gênero *Leishmania* apresenta a capacidade de modificar o sistema imunológico do hospedeiro. Em humanos, a patogenia e as características clínicas da doença variam com o tropismo pelos diferentes órgãos e propriedades das espécies de *Leishmania* infectantes da competência imunológica do hospedeiro (SLAPPENDEL, 1988 ; FEITOSA et al., 2000).

A *Leishmania* spp é um parasita intracelular obrigatório, a defesa do hospedeiro depende da atividade das células T necessária para que os macrófagos sejam capazes de inativar as formas amastigotas. Entre cães, a *Leishmania* parece desenvolver um modelo imune caracterizado pela elevada atividade das células B e pela ausência da imunidade mediada por células para antígenos da mesma. Na infecção natural de cães, as formas amastigotas são usualmente disseminadas por todo o corpo, apesar dos altos níveis de anticorpos circulantes. A LV é caracterizada pela diversidade e complexidade de manifestações clínicas, com uma característica histológica comum: o acúmulo inicial de células fagocítico mononucleares nos tecidos invadidos que promove a hiperplasia das células do sistema fagocítico-mononuclear dos órgãos implicados. As principais lesões histopatológicas detectadas em cães, são a hipertrofia e hiperplasia das células do sistema fagocítico mononuclear (baço, linfonodo, fígado e medula óssea), inflamação crônica na pele, 20 reação granulomatosa inflamatória no fígado e no baço, hepatite com granulomas intralobares, pneumonia intersticial e glomerulonefrite (MACHADO et al., 2007).

Em cães sintomáticos para leishmaniose alguns estudos revelam sinais como, a presença de febre, anemia, lesões de pele, emaciação, hipergamaglobulinemia, hepatoesplenomegalia e linfadenomegalia. Um dos principais substratos da leishmaniose visceral é a multiplicação de amastigotas no sistema fagocítico mononuclear de células de órgãos internos tais como baço, fígado e medula óssea (OLIVEIRA et al., 1993).

Os sinais mais evidenciados na LVC são alterações dermatológicas, dentre essas a alopecia simétrica, local ou generalizada e sem prurido, bem como das ulcerações crostosas freqüentemente observadas no focinho, extremidade das orelhas, cauda e articulações. Outras alterações que podem ser identificadas são seborréia localizada ou generalizada, dermatites, úlceras cutâneas, hiperqueratose, descamação e queratite intersticial, alterações oculares comumente são blefarite, conjuntivite, ceratoconjuntivite seca e uveíte (FEITOSA et al., 2000; BRASIL, 2003; GENARO, 2003; MACHADO et al., 2007).

Por sua sintomatologia clínica complexa a LVC pode facilmente ser confundida com outras doenças infecciosas em animais de companhia. Entretanto, alguns achados alertam que nas regiões endêmicas nos cães, a presença de dermatopatias, onicogribose e/ou linfadenopatia é sugestiva de leishmaniose, sendo necessário que esses animais sejam submetidos ao diagnóstico da doença, em virtude do seu impacto tanto na saúde animal, como na saúde pública (ALBUQUERQUE et al., 2007).

A patologia da leishmaniose visceral é influenciada pela supressão específica da imunidade mediada por células, permitindo a disseminação e a multiplicação descontrolada. A hiperplasia das células monocítico fagocitárias em consequência à infecção com *L. donovani* afeta o baço, o fígado, a mucosa do intestino delgado, a medula óssea e os linfonodos (MALLA & MAHAJAN, 2006).

O estudo histopatológico realizado em camundongos experimentalmente infectados por *Leishmania (L.) amazonensis*, constatou-se

que a hematopoese extramedular parece ser um evento induzido pela infecção e necessária à multiplicação do parasito, uma vez que este se replica no interior de macrófagos ressaltando a observação de que o baço e a medula parecem ser locais da infecção crônica, onde o parasita permanece vivo por longo tempo (ABREU-SILVA et al., 2004).

A multiplicação das amastigotas no baço ocorre simultaneamente à infecção do fígado, persistindo no baço e na medula óssea através de mecanismos pouco compreendidos. Essa persistência parasitária é acompanhada por falha na formação do granuloma e por mudanças patológicas incluindo esplenomegalia, alterações na microarquitetura do tecido linfóide e aumento da atividade hematopoética. Pesquisas histopatológicas revelaram alterações como o decréscimo no número de linfócitos na bainha periarteriolar, elevada proliferação de macrófagos, hiperplasia folicular e aumento da polpa vermelha com predomínio de macrófagos e plasmócitos (MACHADO et al., 2007).

O desenvolvimento de uma resposta imune órgão-específica na leishmaniose visceral ocorre em dois principais órgãos alvos da infecção, o baço e o fígado. Alguns estudos indicam que o baço, considerado local inicial da geração da resposta imune mediada por células, também parece ser local de persistência do parasito associada com modificações imunopatológicas. Incluindo esplenomegalia e distúrbios na arquitetura tecidual que parecem colaborar para o estado de imunocompetência do hospedeiro (MOURA, 2007).

Em uma área endêmica na Venezuela, caracterizou-se a resposta imune *in situ* no fígado e no baço de cães naturalmente infectados de uma área. Os animais foram classificados como sintomáticos e assintomáticos após uma avaliação física e sorológica, sendo que os sintomáticos apresentaram maior carga parasitária no fígado e no baço do que os animais assintomáticos, sugerindo a diminuição da infecção ou um controle mais eficiente da replicação do parasito em cães assintomáticos (SANCHEZ et al., 2004 ; MACHADO et al., 2007).

A esplenomegalia pode ser definida como um aumento de volume difuso do baço, decorrentes de alterações inflamatórias, hiperplasia linforreticular, congestão ou infiltração com células ou por substâncias anormais (amiloidose). As alterações inflamatórias geralmente resultam em aumento de volume localizado ou difuso neste órgão. Podendo ser classificadas em cães e gatos como hiperplásica, congestiva, infiltrativa e inflamatória na qual podemos incluir a esplenite granulomatosa, que pode ocorrer na leishmaniose onde os tipos de celulares predominantes são os macrófagos, células epitelióides, linfócitos ou células gigantes multinucleadas (ETTINGER,1992).

Relatos de literatura demonstram a freqüência de esplenomegalia em cães portadores de LV é variável. No Brasil observou-se notável apresentação histopatológica em cão sintomático, naturalmente infectado por *Leishmania chagasi*, sendo uma intensa reação inflamatória granulomatosa no fígado e no baço, associada com hipertrofia e hiperplasia do sistema mononuclear (MACHADO et al., 2007).

O diagnóstico indireto da doença, como a pesquisa de anticorpos em soro, tem sido bastante empregado em inquéritos epidemiológicos e pode ser realizado, por diferentes métodos como reação de imunofluorescência indireta (RIFI), Enzime Linked Immunosorbent Assay (ELISA), aglutinação direta e fixação de complemento. Dentre os métodos utilizados no diagnóstico etiológico da leishmaniose visceral canina (LVC), a identificação microscópica de formas amastigotas do parasito em esfregaços obtidos por punção de linfonodo, baço, fígado e medula óssea constitui-se num método eletivo, e o cultivo deste material pode ser utilizado em diferentes meios de cultura para isolamento dos parasitos. (MOREIRA et al, 2002).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é de fácil execução, utiliza como antígeno promastigotas de *L. donovani* fixadas em lâmina; outra

vantagem é a possibilidade de pesquisa tanto de IgG quanto de IgM, que é importante pela precoce positividade (MARZOCHI et al., 2001; GENARO, 2003).

2.2. Baço

2.2.1. Anatomia e fisiologia

O baço é um órgão intraperitoneal localizado no hipocôndrio esquerdo, ao longo da grande curvatura do estômago, orientado dorsoventralmente. Seu formato é um tanto falciforme ou triangular, podendo ser variável, assim como o volume. Sua posição é bastante influenciada pela distensão do estômago pela própria capacidade de ingurgitar, contudo é bem profundo às costelas (EVANS, 1993; DYCE, 1996; CARVALHO, 2004).

A extremidade dorsal alcança o pilar esquerdo do diafragma, passando entre o fundo gástrico e o pólo cranial do rim esquerdo, sob a cobertura das duas últimas costelas. A extremidade ventral maior se estende abaixo do arco costal e pode cruzar a linha mediana ventral, para atingir o lado direito sob as cartilagens costais. A superfície parietal tem contato com o diafragma, em seqüência dorsoventral, o arco costal e os músculos abdominais laterais do lado esquerdo. A superfície visceral, dividida pela crista hilar numa faixa cranial relacionada com a grande curvatura do estômago e numa faixa caudal relacionada com o intestino e o rim esquerdo. Os bordos cranial e caudal, são contornos finos e irregulares. Extenso ligamento gastresplênico liga o baço à curvatura maior do estômago. A artéria e a veia esplênicas passam pela extremidade dorsal do baço. Os vasos gastrepilóicos esquerdos se originam ao redor do meio do hilo e cruzam a curvatura maior do estômago dentro do ligamento gastresplênico (EVANS, 1993; DYCE, 1996).

Nos cães e gatos, o baço constitui o maior componente do sistema linfático estando diretamente interposto às circulações portal e sistêmica. A citoarquitetura esplênica funcional está estruturada dentro das polpas vermelha

e branca. A polpa branca realiza o reconhecimento imunológico dos antígenos e bactérias, com a produção subsequente de anticorpos, que é sustentada por uma densa rede de trabéculas de tecido conectivo. A região entre a polpa branca e a trabécula é formada pela polpa vermelha, que atua como filtro, limpando eritrócitos velhos ou defeituosos, nos cães remove eritrócitos com inclusões. O baço apresenta ainda, função de estocagem de sangue e possui células que originam a hematopoiese extramedular (ETTINGER, 1992; PARTINGTON & BILLER, 1996).

A cápsula densa é constituída por músculo liso e fibras elásticas que permite a sua expansão (esplenomegalia) e contração (esplencontração) e emite traves conjuntivo-vasculares (trabéculas) que penetram no interior do órgão (WOOD et al.,1990 ; BUERGELT, 2001) .

Ultra-sonograficamente, o baço se encontra envolvido por uma cápsula ecogênica, fina, lisa e bem definida, exceto na região hilar. O parênquima apresenta uma ecogenicidade de granulação com uma ecotextura homogênea, mais densa e fina que a do fígado e gordura falciforme, sendo considerado hiperecogênico em relação ao córtex renal e ao parênquima hepático e hipoecogênico em relação à gordura do seio renal. Alguns animais apresentam uma imagem hiperecogênica ao redor das veias lienais na região hilar. Tal imagem constitui uma invaginação do tecido conectivo fibroso da cápsula e gordura do hilo (NYLAND, 1995; PARTINGTON & BILLER, 1996).

Por não haver um padrão sonográfico e uma aparência específica para cada tipo celular, faz-se necessário a avaliação conjunta das alterações encontradas no exame ultra-sonográfico com o histórico do paciente, sinais clínicos, exames laboratoriais, na determinação de um diagnóstico. Em alguns casos, a avaliação citológica ou histopatológica do tecido através da obtenção por biópsia aspirativa ou por fragmento (CARVALHO, 2004).

A alteração comumente diagnosticada pela ultra-sonografia é o aumento do volume do baço, dependendo do grau de aumento, ele pode ser

visualizado em diversos segmentos da cavidade abdominal, chegando a dobrar-se sobre si mesmo (CARVALHO, 2004).

2.2.2. Biópsia guiada por ultra-som

O uso da imagem ultra-sonográfica abdominal permitiu um aumento substancial na avaliação pré-cirúrgica dos animais com doença esplênica nos últimos 25 anos. Entretanto, embora a ultra-sonografia detecte mudanças sutis no baço, essas alterações não são tipicamente específicas, a aparência ultra-sonográfica da doença esplênica é variável. Conseqüentemente, para obter diagnóstico sem intervenção cirúrgica invasiva, aspiração por agulha fina guiada por ultra-som, biópsia, ou ambas são geralmente necessárias. A avaliação citológica ou histológica de amostra do tecido esplênico pode resultar em informações que excluem a necessidade de uma cirurgia (BALLEGEER et al., 2007).

A biópsia percutânea guiada por ultra-som, vem se tornando uma rotina na clínica de pequenos animais, visto que, a localização precisa da agulha é possível com o monitoramento contínuo em tempo-real, mesmo em lesões profundas (SMITH, 1985 ; HAGER et al.,1986 ; PAPAGEORGES et al., 1988).

O equipamento de ultra-som é portátil, anestesia geral é usualmente desnecessária e a exposição à radiação ionizante é eliminada. Contudo, a biópsia guiada por ultra-som não é possível quando, gás ou osso impede a visualização da área a ser biopsiada. Neste caso, a tomografia computadorizada (CT) ou fluoroscopia se tornam a modalidade de escolha. Atualmente, o tamanho, tipo e localização da lesão determinarão qual o método de biópsia escolhido. As técnicas de diagnóstico guiadas por ultra-som têm permitido o desenvolvimento de uma variedade de procedimentos terapêuticos percutâneo intervencionista. A aplicação em potencial desse procedimento intervencionista, não invasivo, tem se expandido rapidamente, tanto na medicina humana quanto na veterinária Sendo, a ultra-sonografia intervencionista entendida como qualquer procedimento em que a imagem

ultra-sonográfica é utilizada para direcionar agulhas ou qualquer instrumento perfurocortante para drenar ou colher amostras de coleções líquidas ou teciduais (biópsias) (NYLAND & MATTOON, 1995; KANAYAMA, 2004).

Embora o ultra-som possa ser utilizado para detectar anormalidades em órgãos e tecidos, que raramente são específicas, não pode estabelecer diferenciação entre lesões malignas ou benignas, baseado apenas na imagem, sendo a biópsia necessária para se chegar ao diagnóstico específico (BARR, 1995; GREEN, 1996).

Em 1974, Osborne descreve dois principais tipos de biópsias, as incisionais, que consistem na remoção cirúrgica de uma porção da lesão ou tecido, necessitando de anestesia geral, laparotomia ou toracotomia, que são procedimentos altamente invasivos para a coleta de fragmentos de lesão, para análise histopatológica. Já as percutâneas, são aquelas realizadas sem a necessidade de cirurgia, com a utilização de agulhas específicas introduzidas através da pele (KANAYAMA, 2004).

A biópsia por fragmento guiada por ultra-som tem sido reconhecida na literatura como uma técnica simples, segura e bem tolerada na aquisição de tecido esplênico para o diagnóstico, triagem e para a determinação de doenças esplênicas em pacientes humanos com anormalidades de parênquima (LINDGREN et al., 1985 ; QUINN et al., 1986).

A área de coleta é identificada através do ultra-som, bem como a trajetória da agulha, que não pode atingir estruturas vitais. A agulha pode ser localizada através de uma biópsia guiada por ultra-som ou a mão-livre. Realizando a sucção, uma amostra do baço aparece com um pequeno volume de sangue no tubo da seringa, devendo ser rapidamente colocado na lâmina e realizado o esfregaço semelhante ao sanguíneo. Quando a amostra citológica for insuficiente para o diagnóstico, uma biópsia por fragmento do baço, deve ser feita. Ultra-sonografia abdominal pode ser realizada para monitorar hemorragia após o procedimento (GREEN, 1996).

Dentre biópsias percutâneas, podem ser caracterizadas dois tipos principais, biópsias aspirativas por agulha fina (BAAF) e por fragmento. Entretanto, a primeira utiliza agulhas finas e fornece material para a análise citológica, já a segunda usa agulhas tipo Tru-cut, que retiram pequenos fragmentos possibilitando a análise histopatológica. Sendo que, as técnicas com guias e à mão livre descritas anteriormente, podem utilizar tanto agulhas finas como as Tru-cut (KANAYAMA, 2004).

A biópsia percutânea por fragmento, geralmente é realizada quando a biópsia aspirativa por agulha fina fornece material inconclusivo. São utilizadas agulhas denominadas Tru-cut que podem apresentar calibres entre 16 a 18, sendo esses mais comumente empregados. A agulha deverá ser encaixada na pistola que ao disparar, faz com que a parte interna da agulha vá para frente e rapidamente retorne à posição inicial, permitindo que o fragmento do órgão fique retido na reentrância próximo a extremidade. E o fragmento obtido normalmente mede 1,0cm de comprimento por 0,2 a 0,3 cm de diâmetro (KANAYAMA, 2004).

Os dispositivos automáticos de biópsia, uma inovação recente no campo da instrumentação, têm sido, amplamente utilizados para obtenção de fragmentos de biópsia. Oferecendo mais rapidez e eficiência na obtenção de amostras através da biópsia, conferindo menos dor ao paciente (MLADINICH, et al.,1992).

Uma das vantagens da biópsia percutânea é a de ser realizada sem necessidade de cirurgia, provocando feridas menores, cujo tempo de cicatrização é mais curto (KANAYAMA, 2004). Trabalho realizado com biópsia guiada por ultra-som em lesões no baço de quatro pacientes (humanos) demonstrou ser é uma ferramenta útil e segura na avaliação de lesões focais (KATSUMI & KAZUSHI et al., 2000).

Vale ressaltar que estudo realizado em linfonodos e baço, de três cães naturalmente infectados estavam acentuadamente aumentados e apresentando severa infiltração por células mononucleares com grande número de amastigotas no citoplasma. Sendo as amastigotas mais facilmente encontradas no baço do que nos linfonodos (NATAMI, 2000).

A aspiração de baço pode ser utilizada como um procedimento seguro, para a obtenção de parasitas, para cultura *in vitro*, no diagnóstico de leishmaniose visceral canina (CVL), ou mesmo para obtenção de tecido esplênico para outros testes, incluindo análise por reação em cadeia da polimerase (PCR) (BARROUIN-MELO et al., 2006).

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Descrição da amostra

O trabalho de pesquisa se dedicou nos estudos de 30 cães adultos, machos e fêmeas, com peso médio de 15 Kg, oriundos da Cidade de São Luís, capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses. Foi submetida ao Comitê de Ética e Experimentação Animal do Curso de Medicina Veterinária da UEMA, sob protocolo nº 026/2006 (Anexo).

Todos os animais foram identificados e submetidos a uma avaliação clínica e os dados catalogados em fichas clínicas (Apêndice). A amostra foi subdividida em dois grupos constituídos por 15 animais, sendo um de soronegativos e o outro de soropositivos para leishmaniose visceral, conforme rotina de triagem prévia pelo método de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) do Centro de Controle de Zoonoses.

3.2. Equipamentos

3.2.1. Ultra-sonografia

Aparelho de ultra-sonografia bidimensional, Falco 100, Pie Medical, transdutor eletrônico multifrequencial, variando de 5,0 a 7,5 MHz, de acordo com o órgão a ser avaliado.

A documentação fotográfica dos exames foi armazenada em disquetes e em impressora preto e branco Sony UP 895 MD.

3.2.2. Equipamento de biópsia

Para a coleta de fragmento foi utilizado agulha Tru-cut, acoplada a pistola semi-automática Fine Core.

3.3. Protocolo de exame ultra-sonográfico ultra-sonográfico

Inicialmente, os animais permaneceram em jejum de 08 horas para evitar a presença de gases e distensão das vísceras intestinais, evitando-se assim, a presença de artefatos durante a formação da imagem ultra-sonográfica. O exame foi realizado após a tricotomia do abdômen, compreendendo desde o arco costal até o púbis.

O animal foi posto em posição decúbito dorsal, do lado direito do examinador, o exame procedeu inicialmente com a varredura da cavidade abdominal no sentido horário, buscando uma avaliação do baço e características correspondentes ao tamanho, ecotextura, arquitetura e vascularização. As imagens obtidas eram também comparadas, assim como às dos órgãos adjacentes como o fígado e rins, com os quais o órgão esplênico se relaciona. Sendo possível verificar os limites ecotopográficos, para posterior realização da biópsia.

O processo de interpretação da ultra-sonografia abdominal foi realizada durante o exame para uma observação dinâmica, onde os achados sonográficos e a impressão diagnóstica foram devidamente anotados.

3.4. Protocolo para biópsia por fragmento

Após a avaliação ultra-sonográfica do baço, procedeu-se a sedação seguida de anestesia do animal. Para tanto, utilizou-se acepromazina (Acepran) a 0,2% na dose de 0,05 a 0,2 mg/kg) pela via intravenosa como pré-anestésico, e como anestésico, cloridrato de ketamina a 5% (Vetanarcol) na dose de 5 a 20 mg/kg e cloridrato de xilazina a 2% (Kensol) com dose 1,0 a 3,0 mg/ kg por via intramuscular.

Em seguida, com o animal na posição decúbito lateral direito, uma nova varredura do baço era realizada para evitar afetar, no momento da punção, locais vitais, como grandes vasos e vascularização esplênica como a

região do hilo. Uma pequena incisão na pele, com auxílio de um bisturi, foi realizada para possibilitar a introdução da agulha objetivando-se vencer a resistência inicial. Utilizando-se a agulha de 18x200 (Fine core), com disparo semi-automático, acoplada à pistola. Esse instrumento foi direcionado para o interior do parênquima esplênico sob a orientação ultra-sonográfica, uma vez no local, o fragmento tecidual era obtido após disparo da pistola. O fragmento coletado era acondicionado em recipiente contendo formol tamponado a 10% para o exame histopatológico, conforme procedimentos de inclusão em parafina pelo método de Luna (1968). Após colheita do material da biópsia, no local da incisão foi realizada a síntese com fio de nylon 0.5, como forma de acelerar a cicatrização e reduzir a possibilidade de contaminação.

Depois da biópsia, os animais permaneciam em observação por um período de 24 horas, com avaliação clínica e ultra-sonográfica da cavidade abdominal, para acompanhar qualquer alteração resultante do exame, bem como aplicação de analgésico e antiinflamatório, o Flunixinina meglumina (Banamine® injetável pet 10 mg) na dose de 1mg/kg, por via subcutânea com o intuito de evitar qualquer desconforto no animal.

Com o auxílio do software, INSTAT GRAFPAD, avaliou-se possíveis associações entre os achados clínicos e ultra-sonográficos e a reatividade ao teste sorológico para leishmaniose, foi empregando o Teste Exato de Fisher. Ao testar diferenças entre grupos reagentes e não reagentes para leishmaniose, utilizou-se a análise de variância, comparando-se as médias do diâmetro do baço pelo Teste de Mann-Whitney. Todas as análises foram procedidas, considerando-se o nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antecedendo a avaliação sonográfica do abdômen para a varredura ultra-sonográfica do baço, os animais foram avaliados clinicamente no que diz respeito os sinais e sintomas relacionados à doença leishmaniose. Dessa forma, foi possível observar que os sinais clínicos foram mais evidentes no grupo de animais soropositivos, quando comparados aos soronegativos para a leishmaniose visceral (LV). Dentre as alterações mais freqüentes nos animais soropositivos, salientam-se as lesões de pele, caquexia, hipertrofia dos linfonodos (poplíteos), secreção ocular e onicogribose. Da mesma forma, esses mesmos sintomas foram apresentados nos animais soronegativos. Dados estes observados na tabela 01, Determinam que estes sinais são compatíveis com a leishmaniose ou não, foram reforçados pelo Teste Exato de Fisher na associação destes achados clínicos e na reatividade sorológica ($p > 0,05$). Autores como (OLIVEIRA et al., 1993; FEITOSA et al., 2000; GENARO, 2003; BRASIL, 2003; MACHADO et al., 2007) também observaram estes mesmos sinais clínicos em grupos de cães soropositivos.

Tabela 01 - Sinais clínicos observados nos animais soropositivos e soronegativos para leishmaniose procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de São Luís - MA, 2008.

Sinais clínicos	GRUPO			
	Soropositivo	%	Soronegativo	%
Caquexia	10	22,2	6	24
Onicogribose	9	20,0	3	12
Alterações oculares	8	17,8	3	12
Lesão de pele	11	24,4	9	36
Linfoadenomegalia	7	15,6	4	16
Total	45	100,0	25	100,0

De acordo com a tabela citada acima, tanto os cães soropositivos quanto os soronegativos apresentaram diferentes tipos de sinais clínicos, dentre eles o de maior incidência foram lesões de pele com índices respectivamente de 24,4% e 36%, concordando com os achados de Guimarães

et al (2005) que estudando cães portadores de leishmaniose em duas localidades do município de São José de Ribamar – MA, verificaram que os sinais clínicos mais freqüentes também foram lesões de pele, tanto nos animais soronegativos quanto nos soropositivos, revelando o caráter latente da leishmaniose pele. No entanto nos animais soronegativos as lesões de pele podem também estar associadas a outras situações clínicas oriundas das condições de manejo, considerando que eles são animais errantes.

Evidenciam-se que a imagem ultra-sonográfica bem como, as provas sorológicas não podem ser consideradas isoladamente e definitivas, como indicadores no diagnóstico da leishmaniose. Além das mesmas, o diagnóstico clínico pode ser realizado com base nos sinais apresentados pelos animais. Dessa forma Albuquerque et al., (2007) relatam que nas regiões endêmicas para a doença em cães, a presença de dermatopatias, onicogribose e linfadenopatia são sugestivas para leishmaniose.

Durante os procedimentos de avaliação do baço, através do exame do ultra-som, em toda amostra soropositiva e soronegativa para leishmaniose, foi possível verificar as diversas características que a imagem do baço pôde apresentar e tendo como resultado o seguinte: 13% dos animais soropositivos apresentaram imagem normal, com o baço de ecotextura homogênea, porém mais hiperecócico em relação ao parênquima hepático e a córtex renal, que vai ao encontro de Partington & Biller (1996) no que se refere ao tamanho, contorno, arquitetura e ecotextura de parênquima; 40% dos soronegativos também apresentaram aparência normal, ou seja, hiperecogênico em relação ao córtex renal e ao parênquima hepático e hipoecogênico em relação à gordura do seio renal (NYLAND, 1995; PARTINGTON & BILLER, 1996). Dados esses que surpreenderam, pois se esperava que os animais soropositivos para esta enfermidade, tivessem o uma imagem do baço aumentada, uma vez que, este é um dos órgãos de predileção das amastigotas. Da mesma forma, era também esperada a normalidade da imagem desse órgão nos animais soronegativos. O procedimento de varredura abdominal visava além dos dados

referentes ao tamanho do baço, obter outros aspectos relacionados à ecotextura do parênquima esplênico, assim como dos órgãos abdominais adjacentes visto que, o baço normalmente se apresenta mais ecogênico que o córtex renal e o fígado, sendo menos ecogênico que a gordura do seio renal, assim relatou Green (1996). Entretanto, foi observado a esplenomegalia com ecotextura normal do baço em 60% dos animais soropositivos e em 33% dos soronegativo, conforme tabela 02. Ao se realizar o Teste Exato de Fisher, considerando-se a presença ou não de esplenomegalia, verificou-se não haver associação entre este achado ultra-sonográfico e a reatividade sorológica ($p > 0,05$).

Tabela 02 – Aspectos da Imagem ultra-sonográfica do baço de animais soropositivos e soronegativos para leishmaniose. São Luís - MA, 2008.

GRUPO				
Imagem ultra-sonográfica	Soropositivo (n)	%	Soronegativo (n)	%
Normal	2	13,0	6	40,0
Esplenomegalia (ecotex. normal)	9	60,0	4	27,0
Esplenomegalia (ecotex. hiperecólica)	2	13,0	2	13,0
Esplenomegalia (ecotex. hipoecólica)	1	7,0	2	13,0
Esplenomegalia (ecotex. heterogênea)	1	7,0	1	7,0
Total	15	100	15	100

Ao fornecer dados sobre o tamanho do baço, foi usado como parâmetro a medida da espessura desse órgão com vista a obter a largura, através de corte longitudinal da imagem sobre o terço médio, paralelamente à artéria e veia esplênicas até a extremidade ventral do órgão, de acordo com as observações nas figuras 01 e 02. Assim sendo, ao se avaliar os dados obtidos do diâmetro dos baços através da imagem ultra-sonográfica, a média entre os valores nos animais soropositivos foi de 2,31cm e nos soronegativos foi de 2,20cm (Tabela 03), não havendo, entretanto, diferenças estatísticas entre os dois grupos sorológicos ($p > 0,05$). A este respeito, não foi encontrado nenhuma citação na literatura.

Tabela 03 – Medidas (cm) da largura da imagem ultra-sonográfica do baço de animais soropositivos e soronegativos para leishmaniose. São Luís-MA, 2008.

Grupo	Média (cm)	Desvio-padrão
Soropositivo	1,71 ^a	± 0,24
Soronegativo	1,67 ^a	± 0,30

a – Médias seguidas de letras iguais na mesma linha indicam que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. ANOVA com médias comparadas pelo Teste de Mann-Whitney ($p > 0,05$).

U = 105,50; U' = 119,50; $p = 0,7874$.



Figura 01 - Imagem ultra-sonográfica com a medida da largura do baço de cão soropositivo para leishmaniose (seta branca).



Figura 02 - Imagem ultra-sonográfica com a medida da largura do baço de cão soronegativo para leishmaniose (seta branca).

A execução dos procedimentos de exame físico nos animais, ocorria inicialmente com a palpação dos órgãos abdominais, visando sentir o baço e se o mesmo sofria alguma alteração, o que permitiu verificar que o mesmo aumento à medida que o exame ocorria. O fato ocorre também nos animais nos animais soronegativos o que faz atentar para o fato de que o baço é um órgão do sistema fagocítico monocitário, sendo assim, uma alteração de caráter difuso que além do acréscimo de tamanho e variação da ecotextura do mesmo, demonstra que a esplenomegalia pode variar com a condição da doença. Neste aspecto Green (1996) descreve o baço como um órgão dinâmico, móvel onde seu tamanho e posição podem mudar rapidamente. Assim, a utilização da ultra-sonografia na avaliação do tamanho esplênico deve ser cuidadosamente correlacionada à palpação abdominal.

O exame de ultra-som abdominal apresenta um importante papel na propedêutica das lesões esplênicas, não somente como um adjuvante à radiografia na diferenciação entre lesões focais ou difusas, mas também nas intervenções como método para guiar biópsias percutâneas. No presente estudo, a imagem ultra-sonográfica do baço, não foi específica com relação à

doença leishmaniose, concordando com Schelling (1988) que descreve as condições inflamatórias do baço, das quais a esplenomegalia é uma combinação de mecanismos da hematopoiese extramedular, hiperplasia reticuloendotelial e esplenite plasmocítico-linfocítica, sendo que o grau de envolvimento dos mesmos altera com o agente etiológico e duração da doença. Deste modo a imagem do baço pode variar tanto no tamanho e ecotextura como também na alteração inespecífica da imagem esplênica, observam-se ainda outras doenças, além da leishmaniose.

Notou-se que, apesar da palpação e da varredura abdominal do baço antes da aplicação da medicação sedativa nos animais, não existiu diferença entre aquelas no que se refere ao tamanho. Contudo a esplenomegalia não foi característica específica somente dos animais soropositivos para a RIFI, é observada também nos animais soronegativos, conclui-se que as várias formas da imagem não permitiram a descrição de um padrão de imagem específico para animais portadores de leishmaniose visceral, logo comprova o que disseram Green (1996) e Carvalho (2004), que a ausência de um padrão de imagem ultra-sonográfica e uma aparência específica para o tipo celular, faz-se ainda necessária, e deve ser ainda avaliada conjuntamente tanto no exame ultra-sonográfico, assim como no histórico do paciente, nos sinais clínicos, exames laboratoriais, e em alguns casos, a avaliação citológica ou histopatológica do tecido, obtidos de biópsia aspirativa ou por fragmento, com vistas a fechar o diagnóstico. Por outro lado, Ballegger et al, (2007) citam que a associação entre lesões múltiplas e malignidade não se estende às massas de aparências ultra-sonográficas diferentes e que nódulos simples ou múltiplos, associados às infecções podem ser encontrados.

Dos 30 animais biopsiados e reavaliados 24 horas pós-exame, através da varredura ultra-sonográfica abdominal, não foi observado nenhum caso de hemorragia intra-abdominal ou óbito relacionados ao procedimento. Apenas um animal apresentou hematoma subcutâneo, o que levou a ficar

sendo mantido por mais cinco dias no canil do Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Maranhão, para acompanhamento e reavaliação. Dentre as intervenções guiadas por ultra-som, biópsia por fragmento é uma técnica bem tolerada e minimamente invasiva com a vantagem de oferecer a análise histopatológica, avaliando fragmentos de tecido e proporcionando o diagnóstico diferencial das lesões, conferindo maior rapidez e eficiência na obtenção de amostras através da biópsia, conferindo menos dor ao paciente como ressalta Mladinich et al (1992).

Embora não tenha sido objetivo deste trabalho, o diagnóstico da leishmaniose em si, pelo fato de conhecidamente existirem outros métodos eficientes, salientamos que, pelo fato da leishmaniose apresentar caráter endêmico e pela disponibilidade de animais diagnosticados através da RIFI para doença, o envolvimento significativo do baço revela uma imagem ultrasonográfica de aspecto difuso, apesar de inespecífica. Buscou-se, então, estudar a coleta de material para exame histopatológico através da biópsia por fragmento, que é um procedimento minimamente invasivo, com intuito de avaliar se a quantidade de material obtido seria seguro e eficiente para uma avaliação celular, como mais uma opção diagnóstica, evitando-se assim procedimento cirúrgico invasivo. Os fragmentos obtidos foram em tamanho suficiente, com aproximadamente um centímetro, para a realização dos cortes histológicos.

Foi freqüentemente observado um intenso infiltrado inflamatório, composto de neutrófilos e plasmócitos no parênquima esplênico e, entre essas células, observou-se um grande número de megacariócitos. De acordo com Abreu-Silva (2004), a hematopoese extramedular parece ser um evento induzido pela infecção e necessária à multiplicação do parasito, uma vez que este se replica no interior de macrófagos (Figura 03).

A análise histopatológica revelou que as alterações no baço dos cães apresentavam espessamento e processo inflamatório crônico na cápsula. Também foi observada, a hiperplasia e hipertrofia da polpa branca, depleção

da bainha periarteriolar na polpa branca. Em dois animais do grupo soropositivo foi observado presença de amastigotas no interior de macrófagos (Figura 04).

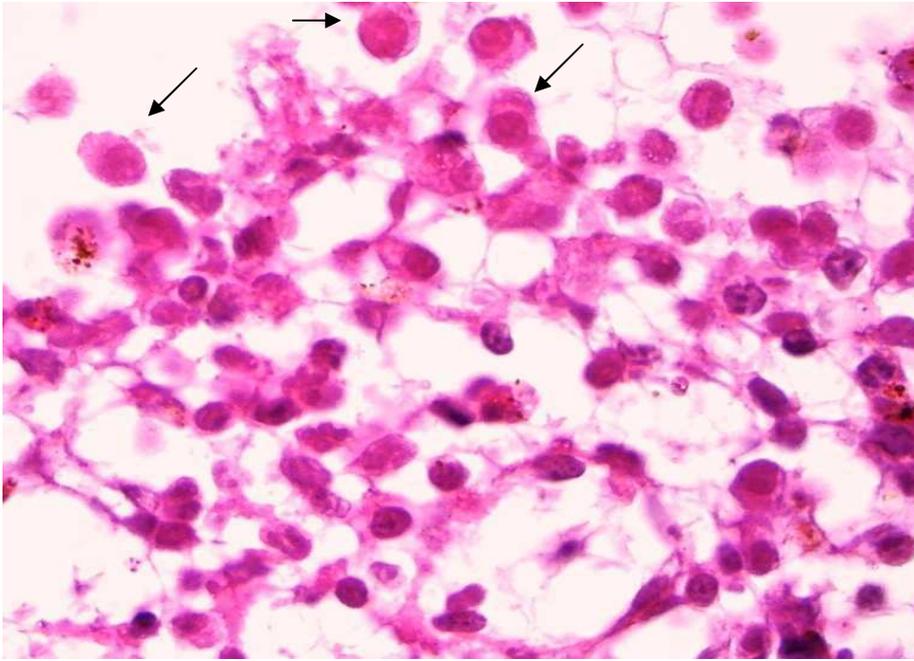


Figura 03 – Lâmina de fragmento de baço de cão soropositivo. Observar a presença plasmócitos (setas). Corte histológico corado pela técnica de Hematoxilina-Eosina (H&E). 100X

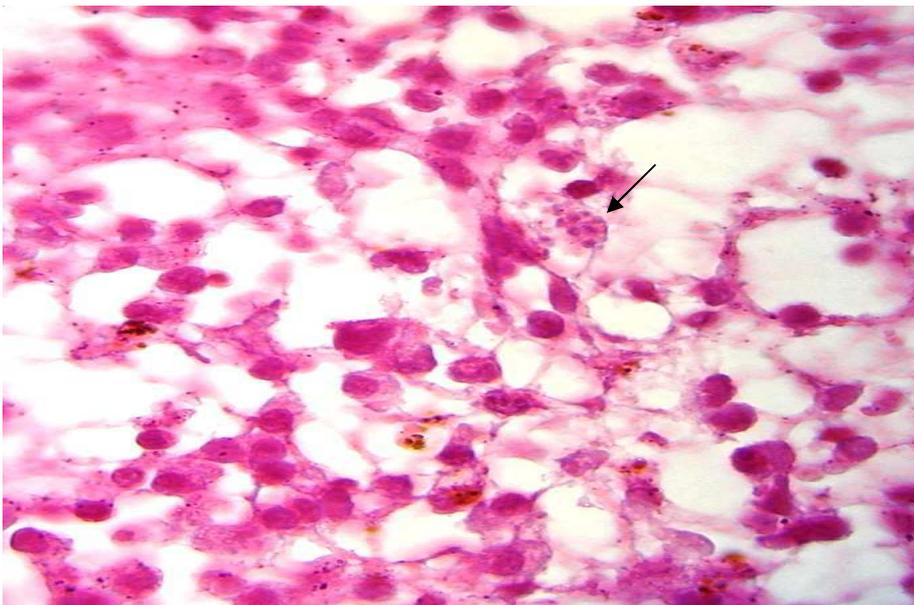


Figura 04 - Lâmina de fragmento de baço de cão soropositivo. Observar a presença de formas amastigotas de Leishmania no interior de macrófagos (seta). Corte histológico corado pela técnica de Hematoxilina-Eosina (H&E). 100X

Estudos realizados por Sanchez et al (2004) em cães naturalmente infectados com *Leishmania chagasi* demonstraram diferenças na resposta imunológica detectada no baço e fígado, mostrando ainda um menor parasitismo naquele órgão em relação ao fígado.

Vale determinar que embora tenha havido melhor desempenho dos métodos clássicos de diagnóstico e da introdução de novas técnicas, ainda não está disponível o teste, que de forma isolada, englobe características consideradas satisfatórias para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina tais como: rapidez, baixo custo, especificidade e alta sensibilidade. E que apesar do diagnóstico da doença, poder basear-se em vários testes, é importante que ele seja realizado tomando por base sintomas clínicos e as condições epidemiológicas do local.

CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, é possível confirmar que a imagem ultrasonográfica do baço de cães tanto do grupo dos animais soropositivos quanto dos negativos para leishmaniose foi inespecífica, apresentando aumento de tamanho, ecotextura, variando do hipoecóico ao hiperecóico quando comparado aos órgãos adjacentes.

Já a técnica da biópsia percutânea guiada pelo ultra-som do parênquima esplênico, mostrou-se eficiente, revelando-se como uma ferramenta útil e segura, oferecendo material satisfatório à avaliação tecidual com possibilidade de presença do parasito.

Uma das vantagens da biópsia percutânea, destaca-se por ser uma técnica viável quanto à avaliação órgão-específica por permitir a coleta de fragmento possibilitando o estudo histopatológico, sem necessidade de cirurgia (laparotomia), possibilitando uma ferida menor, oferecendo um período mais curto de recuperação ao animal com menos riscos. Não foi observada nenhuma alteração pós-biópsia nos animais, mostrando que a técnica de biópsia percutânea guiada pelo ultra-som, é um procedimento seguro.

Neste caso, a biópsia guiada por ultra-som, se mostra favorável por ser um exame fácil e seguro, uma vez que o equipamento é economicamente viável, permitindo um acesso mais fácil a todo o parênquima esplênico. Além disso, este procedimento é realizado em tempo real, possibilitando a obtenção de amostras teciduais em qualquer direção.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABREU-SILVA, A. L. ; CALABRESE, K. S. ; CUPOLILO, S. M. N. ; CARDOSO, F. O. ; SOUZA, C. S. F. ; GONÇALVES DA COSTA, S. C. Histopathological studies of visceralized *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in mice experimentally infected. **Veterinary Parasitology**, v.121, p. 179-187, 2004.
- ALBUQUERQUE, A. R.; ARAGÃO, F. R.; FAUSTINO, M.A.G.; GOMES, Y. M.; LIRA, R. A.; NAKASAWA, M.; ALVES, L. C. Aspectos clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* na região metropolitana de Recife. **Clínica Veterinária**, n.71, p. 78-80, 2007. 2007).
- ALENCAR, J. E., 1991. Expansão do calazar no Brasil. **Ceará Médico**, v. 5, 86-72.
- ASFORD, D. A., BOZZA, M., FREIRE, M., MIRANDA, J. C., SHERLOCK, I., EULALIO, C., LOPES, U., FERNANDES, O., DEGRAVE, W., BARKER Jr, R. H. Comparison of the polymerase chain reaction and serology for the detection of canine visceral leishmaniasis. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**, 53, p. 251-255, 1995.
- BALLEGEER, E. A.; FORREST, L. J.; DICKINSON, R. M.; SCHUTTEN, M. M.; DALANEY, F. A.; YOUNG, K. M. Correlation of ultrasonographic appearance of lesions and cytologic and histologic diagnoses in splenic aspirates from dogs and cats: 32 cases (2002-2005). **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 230, n.5, p. 690 -696, 2007.
- BARR, F. **Diagnostic ultrasound in the dog and cat Diagnostic Ultrasound in the Dog and Cat (Library of Veterinary Practice)**. London: Blackwell Scientific Publications, 1995. 193 p.
- BARROUIN-MELO, S. M., LARANJEIRA, D. F., FILHO, F. A. A., TRIGO, J., JULIÃO, F. S., FRANKE, C. R., AGUIAR, P. H. P., SANTOS, W. L. C., PONTES-de- CARVALHO, L. Can spleen aspirations be safely used for the parasitological diagnosis of canine visceral leishmaniasis? A study on asymptomatic and polysymptomatic animals. **The Veterinary Journal**, 171, p. 331-339, 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, DF, 2003.120p.
- BUERGELT, C. D. Nodular splenic disease in dogs. **Veterinary Medicine**, 96, p.766-776, 2001.
- CARVALHO, C. F. **Ultra-sonografia em Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2004. p. 347-358

DEANE, L. M. & DEANE, M. P. Encontro de *Leishmania* nas vísceras e na pele de uma raposa, em zona endêmica de calazar, nos arredores de Sobral, Ceará. **O Hospital (Rio de Janeiro)**, 45, 419-421. 1954

DEANE, L. M. **Leishmaniose visceral no Brasil**. Serviço Nacional de Educação Sanitária, Rio de Janeiro, 162p. 1956.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. C. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 663p.

ETTINGER, S. J. **Tratado de Medicina Interna Veterinária: Moléstias do Cão e do Gato**. 3 ed, v.4, São Paulo: Manole, 1992, p. 2336-2346.

EVANS, H. E. **Miller's anatomy of the dog**. 3 ed. Philadelphia: W.b. Saunders Company, 1993, p.749-753.

FEITOSA, M. M; IKEDA, F.A.; LUVIZOTTO, M. C.; PERRI, S.H.V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, ano 5, n.28, p.36-44, 2000.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE / MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Controle, diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral (Calazar)**. Brasília, DF, 85p. 1996.

GENARO, O. Leishmaniose Visceral Americana. **Parasitologia Humana**. 10 ed. São Paulo: Atheneu, 2003, p. 56-72.

GREEN, R. W. **Small animal ultrasound**. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996. 377p.

GUIMARÃES, K.S.; BATISTA, Z. S.; DIAS, E. L.; GUERRA, R. M. S. N. C.; COSTA, A. D. C.; OLIVEIRA, A. O.; CALABRESE, K.S.; CARDOSO, F. O.; GONÇALVES DA COSTA, S. C.; ABREU-SILVA, A. L. Canine visceral leishmaniasis in São José de Ribamar, Maranhão State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 131, p. 305-309, 2005.

HAGER, D.; NYLAND, T.; FISHER, P. Ultrasound guided biopsy of the canine liver, kidney and prostate. **Veterinary Radiology**, 26, p. 82–88, 1986.

KANAYAMA, L. M. Ultra-sonografia Intervencionista. In: CARVALHO, C. F. **Ultra-sonografia em Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2004. p. 347-358

KATSUMI, M. & KAZUSHI, N., et al. Sonographically guided core-needle biopsy of focal splenic lesions: Report of four cases. **Pediatric interventional radiology imaging**, 13, p. 302 -320, 2001.

LINDGREN, P. G.; HAGBERG, H.; ERIKSSON, B.; GLIMELIUS, B.; MAGNUSSON, A.; SUNDSTROM, C. Excision biopsy of the spleen by ultrasonic guidance. **British Journal of Radiology**, v 58, p. 853-857, 1985.

LUNA, L.G. **Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology**. 3.ed. New York : McGraw Hill, 1968. 258p.

MACHADO, J. G.; HOFFMAN, J. L.; LANGONI, H. Imunopatologia da leishmaniose visceral canina. **Clínica Veterinária**, n. 71, p.50-58, 2007.

MALLA, N.; MAHAJAN, R. C. Pathophysiology of visceral leishmaniasis – some recent concepts. **Indian Journal of Medical Research**, v.123, p. 267-274, 2006.

MLADINICH, C. R. J.; ACKERMAN, N.; BERRY, C. R.; BUERGELT, C. D.; LONGMATE, J. Evacuation and Comparison of Automated Biopsy Devices. **Radiology**, v.184, p. 845-847, 1992.

MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SOUZA, W. J.; AMENDOEIRA, M.R. Leishmaniose Visceral (Calazar). **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 41, n.5, p.61-84, 1981.

MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. F.; SCHUBACH, A. O. Leishmaniose Visceral Americana (Calazar Americano ou Neotropical). **Parasitologia Humana e Seus Fundamentos Gerais**. 2 ed, São Paulo: Atheneu, 2001, p. 65-80.

MOREIRA, M. A. B.; LUVIZOTTO, M. C. R.; NUNES, C. M.; SILVA, T. C. C.; LAURENTI, M. D. & CORBETI, C. E. P. Aplicação da técnica de imunofluorescência direta para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina em aspirado de linfonodo. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v.39, n.2. p. 103-106, 2002.

MOURA, E. P. **Estudo Histopatológico e imunológico de case naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi* submetidos a tratamento com antimoniato de meglumina encapsulado em lipossomas nanométricos**. Belo Horizonte, 84p., 2007. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB) – Universidade Federal de Minas Gerais.

NATAMI, A.; SAHIBI, H.; LASRI, S.; BOUDOUMA, M.; GUESSOUSS-IDRISSI, N.; RHALEM, A. Serological, clinical and histopathological changes in naturally infected dogs with *Leishmania infantum* in the khemisset province, Morocco. **Veterinary Research**, 31, p. 355 – 363, 2000.

NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S.; WISNER, E. R. Ultrasonography of the spleen. In: NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S. **Veterinary Diagnostic Ultrasound**. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1995. 357p.

OLIVEIRA, G. G., SANTORO F, SADIGURSKY M. The subclinical form of experimental visceral leishmaniasis in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 88, p. 243-248, 1993.

PAPAGEORGES, M.; GAVIN, P.R.; SANDE, R. D et al. Ultrasound-guided fine needle aspiration: an inexpensive modification of the technique. **Veterinary Radiology**, 29, p. 269 – 271, 1988.

PARTINGTON, B. P.; BILLER, D. S. Spleen. In: GREEN, R. W. **Small animal ultrasound**. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, , 1996. 377p.

PENA, H. A. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brasil Médico**, v.48, p. 949-950, 1934.

QUINN, S. F.; VANSONNENBERG, E.; CASOLA, G.; WITTICH, G. R.; NEFF, C. C. Interventional radiology in the spleen. **Radiology**, 161, p. 289-291, 1986.

SANCHEZ, M. A.; DIAZ, N. L.; ZERPA, O.; NEGRON, E.; CONVIT, J.; TAPIA, F. J. Organ-specific immunity in canine visceral leishmaniasis: análisis of symptomatic and asymptomatic dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.70, n.6, p.618-624, 2004.

SANTA ROSA, I. C. A. ; OLIVEIRA, I. C. S. Leishmaniose visceral: breve revisão sobre ma zoonose reemergente. **Clínica Veterinária**, n.11, p. 24-28, 1997.

SCHELLING, C. G.; WORTMAN, J. A.; SAUNDERS, M. Ultrasonic detection of splenic necrosis in the dog. **Veterinary Radiology**, v. 29, n.4, p. 227-233, 1988.

SLAPPENDEL, R.J. Canine Leishmaniasis. A review based on 95 cases in the Netherlands. **Veterinary Quaterly**, v.10, p.1-16, 1988.

SMITH, S. Ultrasound guided-biopsy. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v.15, p.1249-1262, 1985.

SWENSON, C. L.; J. SILVERMAN, J.; STROMBERG, P. C.; JOHNSON, S. E.; WILKIE, D. A.; EATON, K. A.; KOCIBA, G. L. Visceral leishmaniasis in an English Foxhound from an Ohio research colony. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v.193, n.9, p. 1090-1092, 1988.

TORREALBA, J. W. Considerações sobre a epidemiologia de la leishmaniose visceral en Venezuela, **Gaceta Médica Caracas**, 72, p. 99-115, 1959.

WOOD, K. W.; MCCARTHY, P. H.; ANGLES, J. M. Ultrasonographic-anatomic correlation and imaging protocol for spleen anesthetized dogs. **American Journal of Veterinary Research**, 51, p.1433-1438, 1990.

APÊNDICE

APÊNDICE

FICHA		
Nº. _____	PROCEDÊNCIA: _____	
ESPÉCIE: _____		
RAÇA: _____	IDADE: _____	SEXO: _____
SOROLOGIA:		
POSITIVA <input type="checkbox"/>	NEGATIVA <input type="checkbox"/>	
ACHADOS CLÍNICOS:		
EMACIAÇÃO	<input type="checkbox"/>	
ONICOGRIFOSE	<input type="checkbox"/>	
SECREÇÃO OCULAR	<input type="checkbox"/>	
LESÃO DE PELE	<input type="checkbox"/>	
LINFOADENOMEGALIA	<input type="checkbox"/>	
OBS:		
ACHADOS DE IMAGEM DO BAÇO:		
TAMANHO		
ARQUITETURA		
ECOTEXTURA		
OBS:		

ANEXO



Universidade Estadual do Maranhão
Centro de Ciências Agrárias
Curso de Medicina Veterinária
Comissão de Ética e Experimentação Animal – CEEA

DECISÃO DA CEEA/CMV/UEMA

DATA DA ENTRADA DO PEDIDO: 04/05/2006

NÚMERO DO PROCESSO: nº 026/2006

NÚMERO DO PARECER: nº 026/2006

DATA DO PARECER: 09/05/2008

TÍTULO DO PROJETO: Aspectos anatomopatológicos através da imagem ultra-sonográfica e biópsia percutânea guiada do baço de cães infectados por *Leishmania (L.) chagasi* no município de São Luís – MA.

OBJETIVO DA PESQUISA: descrever os aspectos anatomopatológicos através da imagem ultra-sonográfica do baço, testar a técnica de biópsia guiada como método não invasivo na complementação do diagnóstico de animais soropositivos para leishmaniose.

CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA: 30 cães adultos, sem distinção de idade ou sexo, subdivididos em dois grupos de 15 animais entre soropositivos e soronegativos para *Leishmania (L.) chagasi*, capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses de São Luís – MA.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Profa. Dra. Alana Lislea de Sousa

PÓS-GRADUANDA EXECUTORA DA PESQUISA: Médica Veterinária Keyla dos Santos Guimarães

EQUIPE/COLABORADORES: Profa. Dra. Ana Lucia Abreu Silva, Prof. Dr. Porfirio Candanedo Guerra, Graduanda de Medicina Veterinária Nathálya dos Santos Martins.

- (x) APROVADO
() APROVADO COM RECOMENDAÇÃO
() EM PENDÊNCIA PARA ADEQUAÇÃO DE SUGESTÕES
() NÃO APROVADO

PARECER: Projeto aprovado, tendo em vista que atende aos princípios éticos e de bem estar para a experimentação animal, conforme as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e da Resolução do CFMV nº 879 de 15/02/2008.

Aprovado ad referendum aos nove dias do mês de maio do ano de dois mil e oito.

ASSINATURA PRESIDENTE: Profa. Dra. ^{Alana} Lislea de Sousa
Matrícula Uema 9357
MV - 334-MA

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)