

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Rafaela da Silveira Prestes

**ANÁLISES COMPARATIVAS ENTRE EXAMES ULTRASSONOGRÁFICO E
HISTOPATOLÓGICO DA VESÍCULA BILIAR EM CÃES**

Belo Horizonte

2020

Rafaela da Silveira Prestes

**ANÁLISES COMPARATIVAS ENTRE EXAMES ULTRASSONOGRÁFICO E
HISTOPATOLÓGICO DA VESÍCULA BILIAR EM CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área: Medicina e Cirurgia Veterinárias

Orientadora: Profa. Dra. Anelise Carvalho Nepomuceno

Coorientadores: Prof. Dr. Renato César Sacchetto Tôrres e Profa. Dra Roselene Ecco.

Belo Horizonte

2020

Prestes, Rafaela da Silveira .1991–
P936a Análises Comparativas Entre Exames Ultrassonográficos e Histopatológico da
Vesícula Biliar
em Cães/ Rafaela da Silveira Prestes- 2020.
53f:il.

Orientadora: Anelise Carvalho Nepomuceno
Coorientadores: Renato César Sacchetto Tôres
Roselene Ecco

Dissertação (Mestrado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal
de

Minas Gerais
Área de Concentração: Medicina e Cirurgia Veterinária.
Bibliografia f. 46 – 52
Anexos: f.53.

1. Cão - Teses - 2. Animais domésticos - Doenças - Teses – 3. Ultrassonografia
veterinária -
Teses. I. Nepomuceno, Anelise Carvalho – II. Tôres, Renato César Sacchetto – III. Ecco,
Roselene - IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - V. Título.

CDD – 636.089 69

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

FOLHA DE APROVAÇÃO

RAFAELA DA SILVEIRA PRESTES

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Medicina e Cirurgia Veterinária.

Aprovado(a) em 05 de fevereiro de 2020, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Dr.(a). Angélica Carvalho Nepomuceno
Presidente - Orientador(a)

Prof(a). Dr.(a). Ingrid Rios Lima Machado

Prof(a). Dr.(a). Fabiana de Oliveira Paes Leme

Dedico à minha família.

AGRADECIMENTOS

À minha Família:

Aos meus amados pais que, apesar da distância instituída para a realização deste e de outros projetos pessoais, esforçaram-se para romper as barreiras da distância e os obstáculos por nós encontrados no caminho.

Às minhas irmãs, Júlia e Sibebe Prestes, por *la fuerza, amor y complicidad*.

Aos meus avós, pelos exemplos de resiliência e pelo amor compartilhado comigo.

À minha tia Hilda, Sérgio e Amanda, por todo incentivo e carinho a mim canalizado.

À minha prima Cristiana, por todo o amor encontrado em seus olhos, pela delicadeza do cuidado instituído em todos os dias da nossa convivência.

À minha prima Luciana, por me refugiar e trazer paz, por todo o amor expressado, e pelo presente da convivência afortunada com a presença do Igor e do Hugo.

À minha tia Ana Luiza, por todo carinho compartilhado, pelos abraços acolhedores e pela energia provedora do bem.

Ao Beto, pelo carinho, conselhos e grande incentivo para a finalização deste e outros projetos.

Ao Fábio e ao Rodrigo pelo convívio e amizade.

Aos meus amigos:

À Paula e à Nathalia, por enfrentarem comigo momentos de dor e alegria. Agradeço por serem a minha força nesses dois anos, por serem incansáveis em demonstrar afeto e carinho. Obrigada por todos os ensinamentos compartilhados e por todos os deliciosos momentos de convivência.

Ao Breno, pela energia de Oxum e Iemanjá. Obrigada por sempre renovar a minha fé. Obrigada pelo convívio e pelos sábios conselhos.

À Daniela por todo carinho, preocupação, acolhida e amizade.

À Acacia, Izabela, Cinthia e Thais. Belo Horizonte é mais bela com a amizade de vocês. Com cada uma, posso falar que compartilhei momentos inesquecíveis e cheios de carinho.

À Thalita pela cumplicidade na resistência, por ser sol nos momentos difíceis.

À Caroline, Jéssica e Luiza. Por me presentarem com uma amizade que percorre o tempo e a distância. Obrigada por toda a resistência e amor nessa jornada da vida.

Aos alunos de residência do Setor de Patologia Veterinária da UFMG, Clarissa, Samatha, Lucas Braga, Lucas Reis, Carlos Eduardo e Sóstenes. Obrigada pelos conhecimentos compartilhados, pelo carinho com o trabalho e por toda a ajuda, fundamental neste processo.

À equipe de veterinária da Fazenda Abrigo da Fauna: Camila, Carolina, Maria Beatriz, Lucila e Luísa. Pela acolhida, incentivo e por todo o trabalho compartilhado com amor e esperança.

Aos professores:

À professora Anelise Carvalho Nepomuceno, por todas as oportunidades, ensinamentos e orientação. Ser professor é conduzir sonhos. Obrigada por toda a ajuda para conduzir os meus.

Ao professor Renato Sacchetto, pelo apoio, acolhida, ensinamentos e coorientação.

À professora Roselene Ecco, pelas ideias, ensinamentos e coorientação. Agradeço por todo o empenho para o desenvolvimento deste trabalho.

À professora Ingrid Rios Lima Machado, por aceitar ser membro da banca deste trabalho e por fazer parte fundamental do meu crescimento profissional e pessoal. Agradeço por todo o carinho, tão importante.

À professora Fábíola de Oliveira Paes Leme, agradeço pelo apoio em períodos complicados, por todos os conselhos, escutas e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Apoio Financeiro:

À CAPES, pela bolsa de auxílio à pesquisa concedida.

À FEPE, pelo apoio a este trabalho.

Outros:

Aos animais incluídos involuntariamente neste trabalho, que contribuíram para que se ampliasse o conhecimento a respeito das afecções estudadas.

“Lute com determinação, abrace a vida com paixão, perca com classe e vença com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito bela para ser insignificante.” (Charles Chaplin)

Resumo

Na medicina veterinária, doenças restritas à vesícula biliar (VB) são incomuns em cães. Dentre as doenças que acometem os cães e apresentam maior prevalência estão a colecistite, a mucocele da VB, a colelitíase e as neoplasias. O exame histopatológico da VB é apontado como padrão ouro. Entretanto o exame ultrassonográfico abdominal está cada vez mais inserido na rotina da clínica veterinária e se constitui como um exame seguro, pouco invasivo, inócuo e de baixo custo. Ele permite que casos de afecções da VB antes subdiagnosticados passem a ter um diagnóstico mais preciso. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi identificar, quantificar e correlacionar as diferentes lesões da VB de cães diagnosticadas por exames ultrassonográficos e histopatológicos. Foram avaliadas as VB de 60 cadáveres de cães admitidos na rotina do Setor de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG), sem predileção por sexo, idade e raça. Os resultados demonstraram que o exame ultrassonográfico, quando correlacionado com o exame histopatológico, apresentou 83% de concordância na análise dos dados gerais para a presença ou ausência de alterações da VB. O nível de concordância no teste de Kappa foi 0,63, o que é considerado um valor substancial. Em comparação, a concordância de Kappa nas afecções estudadas de forma individual obteve-se uma correlação baixa. Correlacionando os dados das análises não paramétricas e os do exame histopatológico, 35% das amostras apresentaram mucocele da VB, 33,3% não apresentaram nenhum tipo de alteração e 30% foram diagnosticadas com hiperplasia mucinosa cística (HMC). As semelhanças entre os achados ultrassonográficos das diferentes afecções da VB – como a HMC, mucocele e colecistite – indicam que o exame ultrassonográfico não apresenta boa acurácia diagnóstica. Contudo, mais estudos devem ser realizados a fim de se aprofundar o entendimento da correlação entre ultrassonografia e histopatologia para o direcionamento de conclusões diagnósticas.

Palavras-chave: Canino. Vias Biliares. Ultrassom. Patologia.

Abstract

In veterinary medicine, diseases restricted to the gallbladder (GB) are uncommon in dogs. Among the diseases that affect dogs and are more prevalent are cholecystitis, GB mucocele, cholelithiasis and neoplasms. Histopathological examination of GB is indicated as the gold standard. However, abdominal ultrasound examination is increasingly being performed in veterinary clinics and constitutes a safe, low-invasive, harmless and low-cost examination. It allows cases of GB disorders that were previously underdiagnosed to have a more accurate diagnosis. In this context, the objective of this study was to identify, quantify and correlate the different GB lesions of dogs diagnosed by ultrasound and histopathological exams. The GB of 60 cadavers of dogs admitted to the Veterinary Pathology Sector of the Veterinary School of the Federal University of Minas Gerais (EV-UFMG) were evaluated, with no predilection for sex, age and race. The results demonstrated that the ultrasound examination, when correlated with the histopathological examination, showed 83% agreement in the analysis of the general data for the presence or absence of GB changes. The level of agreement in the Kappa test was 0.63, which is considered a substantial value. In comparison, Kappa's agreement in the conditions studied individually obtained a low correlation. Correlating the data from the non-parametric analyzes and those from the histopathological exam, 35% of the samples presented with a GB mucocele, 33.3% did not present any type of alteration and 30% were diagnosed with cystic mucinous hyperplasia (CMH). The similarities between the ultrasound findings of different GB disorders – such as CMH, mucocele and cholecystitis - indicate that the ultrasound examination does not present a good diagnostic accuracy. However, further studies should be carried out in order to deepen the understanding of the correlation between ultrasound and histopathology to guide diagnostic conclusions.

Keywords: Canine. Gallbladder. Ultrasound. Pathology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação da frequência das principais afecções encontradas no exame histopatológico da VB de 60 peças anatômicas de VB de cães provenientes do Setor de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG. (a) Tabela representando a frequência absoluta das principais afecções encontradas neste estudo. (b) Gráfico representando a frequência relativa das principais afecções encontradas no estudo. 33

Figura 2 – Tabela de contingência representando a análise estatística de Kappa com os dados gerais obtidos, considerando apenas a presença ou ausência de alteração nos exames ultrassonográficos e histopatológicos. Constam também os dados encontrados em cada afecção de forma individual, correlacionadas com os mesmos dois exames. A frequência (%) indica a concordância entre os dados, e o valor entre parênteses corresponde ao valor de Kappa. Valores de Kappa próximos a zero indicam nenhuma concordância; valores de Kappa próximos a um indicam concordância quase perfeita. 34

Figura 3 – Gráfico representando a associação entre a espessura da parede da VB e as classificações histopatológicas. São apresentados os valores mensurados (pontos) sobrepostos aos *boxplots*. O valor (p) dos testes se encontra acima dos gráficos. As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas (teste par-a-par). É possível observar que a hiperplasia mucinosa cística da VB apresentou valores mais elevados quando comparada à mucocele e à VB normais. 35

Figura 4 – Gráfico representando a associação entre a espessura da parede da VB e as classificações histopatológicas de peças alteradas (com hiperplasia mucinosa cística e mucocele da VB) e peças sem alterações. São apresentados os valores mensurados (pontos) sobrepostos aos *boxplots*. O valor (p) dos testes se encontra acima do gráfico. As legendas de “alterado” e “normal” representam as comparações múltiplas (teste par-a-par). 36

Figura 5 – Imagem ultrassonográfica em corte longitudinal de uma peça anatômica de VB de um cão de médio porte. (a) Nota-se parede da VB espessa medindo 3,3 mm (entre asteriscos vermelhos), além de dupla parede consistente com edema. O conteúdo intravesical apresenta-se anecoico. (b) Corte histológico da VB do mesmo paciente, mostrando hiperplasia das células mucinárias na camada mucosa. As glândulas mucinárias apresentam ectasia multifocal e estão repletas por moderada

quantidade de conteúdo mucinar (seta vermelha), (Coloração de HE, 500 µm). (c) Corte histológico do mesmo fragmento demonstrando glândula mucinar com significativa quantidade de conteúdo mucoso intraluminal (seta vermelha), (Coloração HE, 200 µm). Fonte: Setores de Diagnóstico por Imagem e Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFGM). 36

Figura 6 – Tabela de contingência, com as possíveis associações entre a ecogenicidade do conteúdo biliar atribuída pelo exame ultrassonográfico simples e a classificação histopatológica (padrão ouro). 37

Figura 7 – Gráficos representando a frequência relativa da ecogenicidade do conteúdo biliar, graduada pelo exame ultrassonográfico em relação às classificações histopatológicas de hiperplasia, mucocele e peças normais da VB. (a) Porcentagem de peças que mostraram conteúdo anecoico (b) Porcentagem de peças que mostraram conteúdo ecogênico. (c) Porcentagem de peças que mostraram conteúdo hiperecogênico. 38

Figura 8 – (a) Tabela de frequência relacionando a presença ou ausência de dupla parede de VB no exame ultrassonográfico. (b) Gráfico de frequência relativa de presença ou ausência de dupla parede, obtidas por meio de exame ultrassonográfico nas amostras de peças de VB coletadas em cães. 39

Figura 9 – Tabela de contingência relacionando a presença ou ausência de imagem semelhante à dupla parede no exame ultrassonográfico e as suas classificações histopatológicas em cães. 39

Figura 10 – (a) Imagem ultrassonográfica em plano transversal de uma peça de VB de um cão de pequeno porte. Nota-se vesícula biliar distendida, apresentando lama biliar ecogênica na porção pendente do lúmen (asterisco), com aspecto de padrão estrelar. Presença de borda contínua e irregular variando de hipoeicoica a anecoica visível na periferia interna da VB (seta vermelha), caracterizando mucocele da VB. (b) Corte histológico do mesmo paciente mostrando acúmulo de muco, projetando-se para o lúmen da VB (seta vermelha tracejada), (Coloração de HE, 200 µm). (c) Corte histopatológico da VB do paciente citado mostrando proliferação da mucosa, formando projeções epiteliais que se estendem ao lúmen da VB (seta vermelha tracejada), (Coloração de HE, 200 µm). Fonte: Setores de Diagnóstico por Imagem e Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFGM). 40

Figura 11 – (a) Imagem ultrassonográfica em plano transversal de amostra da VB de um cão de pequeno porte, apresentando parede da VB espessa (5mm), associada a um padrão de múltiplas camadas irregulares e de diferentes ecogenicidades (entre cursores). Mostra a grave inflamação da parede, edema e necrose. (b) Corte histopatológico do mesmo paciente mostrando colecistite com infiltrado inflamatório. Nota-se infiltrado inflamatório crônico inespecífico em todas as camadas da VB, principalmente na lâmina própria e serosa (seta vermelha indicando infiltrado inflamatório em serosa), (Coloração de HE, 200 μ m). (c) Corte histológico demonstrando infiltrado inflamatório crônico (seta vermelha tracejada) em lâmina própria (Coloração de HE, 50 μ m). Fonte: Setores de Diagnóstico por Imagem e Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG).

42

Figura 12 – Imagens ultrassonográficas da VB de um cão de médio porte, filhote, mostrando um colélito de bilirrubina e ferro. (a) Plano transversal da VB mostrando estrutura sólida, circunscrita e regular, composta por um halo hiperecogênico com centro hipoecogênico, não formador de sombra acústica, situado no lúmen da VB (seta vermelha). (b) Plano transversal mostrando irregularidade de superfície e hiperecogenicidade da mesma estrutura (seta vermelha). (c) Imagem ultrassonográfica do mesmo paciente mostrando a mensuração do colélito (6,1x3,0mm). Fonte: Setor de Diagnóstico por Imagem do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG).

43

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVO GERAL	17
2.1 Objetivos específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 Anatomia do fígado e das vias biliares	18
3.2 Histologia da vesícula biliar	18
3.3 Anatomia ultrassonográfica das vias biliares	19
3.4 Fisiologia da vesícula biliar.....	20
3.5 Lama biliar	20
3.6 Colelitíase	21
3.7 Mucocele da vesícula biliar	23
3.8 Hiperplasia da vesícula biliar	25
3.9 Colecistite	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 Animais	28
4.2 Procedimentos	28
4.2.1 Exame ultrassonográfico do fígado e da vesícula biliar	28
4.2.2 Inspeção macroscópica da vesícula biliar.....	29
4.2.3 Exame histopatológico.....	30
4.2.4 Análise estatística.....	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
6. CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46
ANEXO A – Laudo do Laboratório de Análises Clínicas Hermes Pardini	53

1. INTRODUÇÃO

A vesícula biliar (VB)¹ é um órgão anexo ao fígado e componente importante do sistema digestivo. O conjunto formado pelo fígado, ductos orgânicos e a VB é denominado de vias biliares (GOMES et al., 2018). A VB interliga-se com o fígado por meio desses ductos orgânicos, que apresentam função de drenagem e transporte da bile. A VB é responsável por reservar e concentrar a bile produzida pelo fígado, que é liberada posteriormente no intestino delgado (PROLO et al., 2017). Dentre as funções da bile, destacam-se o auxílio na absorção dos produtos terminais da gordura através da mucosa intestinal e sua contribuição na excreção de outras substâncias, como a bilirrubina e o excesso de colesterol (GUYTON et al., 2006).

Os principais fatores de risco relacionados às afecções das vias biliares relatados na medicina humana incluem a idade, gênero, nível de atividade física, alimentação, estilo de vida e a perda de peso rápida (PROLO et al., 2017). As doenças das vias biliares implicam em altas taxas de morbidade e mortalidade, que podem variar de 10% a 60%. Contudo, nas últimas décadas observou-se um aprimoramento do diagnóstico, tratamento e prognóstico das afecções da VB (CLAESSON et al 1986; LOH et al., 2019).

Na medicina veterinária, historicamente, a incidência de doenças restritas à VB é baixa. No entanto, as principais afecções da VB em cães incluem colecistite, mucocele, colelitíase e neoplasias (CHEBLI et al., 2000). As neoplasias da VB são incomuns em cães (MAYHEW et al., 2017). Contudo, formações neoplásicas como os carcinóides, adenomas, carcinomas, pólipos e leiomiomas podem ser visibilizadas na VB de cães e humanos (CULLEN e POOP, 2009). Na medicina veterinária podemos destacar, ainda, que as afecções da VB acometem principalmente animais idosos e endocrinopatas (CHEBLI et al., 2000; KILPATRICK et al., 2017).

Para a confirmação do diagnóstico dessas afecções, o exame histopatológico da VB é apontado como padrão ouro, pois permite um diagnóstico definitivo das afecções, proporcionando uma visão mais completa da arquitetura tecidual. Em contrapartida, tem a desvantagem de ser um exame invasivo que necessita de sedação ou anestesia geral do animal (ROQUETTE et al., 2008). As amostras para a realização do exame histopatológico podem ser coletadas por meio de cirurgia aberta

¹ Neste trabalho, será utilizada a sigla VB para se referir à vesícula biliar.

e/ou laparoscopia, procedimentos invasivos que podem não ser seguros para os pacientes (ROQUETTE et al., 2008; ORO et al., 2010).

O exame ultrassonográfico abdominal é o método de imagem inicial para a abordagem diagnóstica e a avaliação do sistema biliar, pois é amplamente disponível, seguro, pouco invasivo, inócuo e de baixo custo, além de ser realizado em tempo real (BARBOSA et al., 2011). Dentre as principais indicações do exame ultrassonográfico das vias biliares, destacam-se as suspeitas de obstrução extra-hepática, a busca por colelitíases e mucocele e a avaliação da espessura da parede da VB (NYLAND et al., 2015). Outra função do exame ultrassonográfico abdominal é auxiliar na colecistocentese, que pode ser utilizada na descompressão da VB e para obter amostras de bile a fim de realizar análises bioquímicas e microbiológicas (PENNINCK & D'ANJOU, 2011).

A associação dos achados ultrassonográficos aos dados histopatológicos é promissora para a obtenção de um diagnóstico mais acurado e a elucidação de fatores que predisõem às afecções da VB (SECCHI, 2011). No entanto, estudos realizados em medicina veterinária sinalizam a necessidade de mais trabalhos relacionados à VB (HOWES, 2011). Neste trabalho, o objetivo foi identificar, quantificar e correlacionar os dados obtidos por meio do exame ultrassonográfico da VB aos achados histopatológicos.

2. OBJETIVO GERAL

Identificar, quantificar e correlacionar os dados obtidos por meio do exame ultrassonográfico da VB com os achados histopatológicos em cães.

2.1 Objetivos específicos

Avaliar a frequência de alterações da VB em cães encaminhados para necropsia no setor de patologia geral do HV-UFMG.

Realizar uma análise descritiva das principais afecções observadas nas vias biliares de cães.

Correlacionar o diagnóstico ultrassonográfico das afecções em vias biliares ao diagnóstico histopatológico.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Anatomia do fígado e das vias biliares

O fígado é a maior glândula do corpo, localizando-se na porção mais profunda do abdômen, na espécie canina. É recoberto por peritônio, que se apoia sobre uma base de tecido conjuntivo – a cápsula fibrosa –, que emite septos para o seu parênquima, delimitando os lóbulos hepáticos. Estes lóbulos são compostos de células hepáticas (hepatócitos), capilares sinusóides, canalículos bilíferos e capilares linfáticos, os quais, em relação à sua vascularização, podem caracterizar diferentes unidades funcionais. O fígado apresenta os lobos hepáticos direito e esquerdo, com as subdivisões lateral e medial, respectivamente. Apresenta, ainda, o lobo quadrado parcialmente associado ao lobo direito em cães, e o lobo caudado, que se subdivide em um processo papilar e em outro processo caudado (KÖNIG & LIEBICH, 2004; NYLAND et al., 2015). Entre os lobos medial direito e quadrado, localiza-se a VB, que compõe o sistema biliar extra-hepático juntamente com o ducto hepático e o ducto biliar comum. A formação do sistema biliar extra-hepático é originada dos canalículos biliares que se unem para formar os ductos biliares (POPESKO, 2012).

Os ductos interlobulares formam os ductos intra-hepáticos, que são variáveis em número e terminação. A partir da anastomose destes ductos surgem os ductos extra-hepáticos, que por sua vez percorrem a placa de hepatócitos e confluem para a periferia dos lóbulos hepáticos. Nesse local, continuam como ducto biliar comum, também denominado de ducto colédoco (SANTOS, 2019). Em cães, o ducto colédoco desemboca no duodeno, na região da papila duodenal maior (POPESKO, 2012).

3.2 Histologia da vesícula biliar

Histologicamente, a parede da VB apresenta cinco camadas. A camada mucosa é revestida por epitélio colunar simples e ciliar, que é altamente absorptivo e desempenha importante função na secreção de mucina, imunoglobulinas e ácidos biliares (QUINN & COOK, 2009). O epitélio é sustentado por um tecido conjuntivo fibroso, o qual compõe a lâmina própria, onde também são observados vasos sanguíneos de pequeno calibre, linfócitos e plasmócitos. Abaixo da mucosa, há uma camada fina de fibras musculares lisas, as quais possuem receptores de

colecistoquinina (CCK), hormônio produzido pelas células da mucosa duodenal. Estes receptores respondem à CCK liberada pelas células enteroendócrinas do duodeno, em resposta à presença de gorduras e proteínas presentes no intestino (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013). A camada muscular externa contém feixes de células musculares lisas, colágeno e fibras elásticas (QUINN & COOK, 2009). Abaixo disso, na parte externa da VB, há uma espessa camada de tecido conjuntivo, que contém grandes vasos sanguíneos, nervos e vasos linfáticos. Esta camada está ligada ao fígado e é chamada de adventícia. Na região não acoplada ao fígado, há uma camada externa de mesotélio e tecido conjuntivo frouxo que corresponde à camada serosa (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

3.3 Anatomia ultrassonográfica das vias biliares

O exame ultrassonográfico é um excelente recurso de imagem utilizado para avaliar as anormalidades estruturais da VB. Além disso, proporciona diagnósticos diferenciais relacionados a processos inflamatórios e neoplásicos da VB, obstrução biliar extra-hepática, colélitos e coledocolólitos (NYLAND et al., 2015). Quanto ao formato fisiológico da VB no exame ultrassonográfico, esta pode apresentar-se ovoide, arredondada ou piriforme (PELEGRINI et al., 2015). A VB pode variar acentuadamente de tamanho entre cães hípidos, sofrendo aumento em animais anoréxicos, de forma que seu volume, por si só, não é considerado um sinal de obstrução biliar (HITTMAIR, 2001).

A parede de uma VB normal é fina, hiperecogênica e regular (SANTOS, 2009). A espessura da parede da VB em cães saudáveis é de 1 mm, e pode ser obtida por meio de cortes ultrassonográficos em planos longitudinais ou transversais. No entanto, a espessura da parede varia de acordo com o grau de distensão da VB (HITTMAIR, 2001; FEENEY et al., 2008).

Deve-se tomar cuidado e considerar a presença de artefatos de imagem ao determinar a espessura da parede da VB. O pseudoespessamento da VB pode ser causado por reverberação ou presença de líquido livre formador de uma interface acústica entre o fluido e a parede (FEENEY et al., 2008). A árvore biliar intra-hepática composta de canalículos biliares e ductos biliares não é vista em pacientes saudáveis. E o ducto biliar comum pode ser visibilizado entre o duodeno proximal e a veia porta podendo ter até 3 mm de largura em cães (ZEMAN et al., 1981).

3.4 Fisiologia da vesícula biliar

A bile é um composto aquoso de substâncias orgânicas e inorgânicas. Apresenta vários componentes, como colesterol, água, lecitina, eletrólitos, pigmentos biliares, urobilinogênio e sais biliares (BICALHO et al., 2002). O colesterol está presente em todas as membranas celulares e é o precursor da formação dos sais biliares, hormônios esteroidais e vitamina D (FURIAN, 2019). Os eletrólitos e a água são reabsorvidos pelo epitélio da VB, e existe alguma absorção passiva de compostos lipossolúveis, como o colesterol. Entretanto, no pH da bile, os sais biliares verificam-se primariamente em sua forma conjugada e não são solúveis nas membranas lipídicas. Assim, os sais biliares tornam-se concentrados de 10 a 20 vezes na VB.

Quando há um desequilíbrio na concentração dos componentes da bile, ocorre o favorecimento da cristalização dos compostos e a posterior formação de cálculos (WANG et al., 2007; NELSON & COUTO, 2010; FURIAN, 2019). Dentre os principais ácidos biliares sintetizados no fígado dos mamíferos estão o ácido 5 β -colanoico, ácidos biliares primários como o ácido cólico (3 α , 7 α , 12 α -trihidroxi- 5 β -colanoico) e o ácido quenodesoxicólico (3 α , 7 α -dihidroxi- 5 β -colanoico). A conjugação dos ácidos biliares aumenta a sua solubilidade aquosa, diminuindo a absorção passiva durante seu trajeto pelo trato biliar e também pelo intestino delgado. Este fato promove a manutenção de altas concentrações intraluminais de ácidos biliares na árvore biliar e no intestino, o que facilita o seu papel na estimulação do fluxo biliar e na promoção da absorção de gorduras no intestino (SECCHI, 2011). Na bile canina, mais de 50% do cálcio é reabsorvido pela parede da vesícula. Isto mantém baixa a concentração desse íon, protegendo contra a sua precipitação (CENTER, 2009).

3.5 Lama biliar

O primeiro estudo a identificar lama biliar ocorreu na década de 1970, com o auxílio da ultrassonografia abdominal em humanos (KO et al., 1999). O sedimento biliar, também chamado de lama biliar, é considerado uma suspensão particulada, viscosa e intravesicular formada pelo processo de modificação da bile hepática pela camada mucosa da VB (CENTER, 2009). A formação do sedimento biliar depende das interações físico-químicas dos componentes biliares, das alterações na função da

mucosa e na motilidade da VB (KO et al., 1999). À microscopia, a lama biliar é caracterizada por apresentar uma coleção de inúmeros cristais, glicoproteínas, proteínas, debris celulares e mucina (SAUCEDO & MARTINS, 2009). Na medicina humana, também é utilizado o termo “lama biliar” para definir microlitíases, considerando microcálculos menores que 2 mm (PAZZI et al., 2003; SAUCEDO & MARTINS, 2009).

Atualmente, acredita-se que as possíveis causas associadas à formação de lama biliar em pacientes humanos incluem jejum prolongado, alimentação parenteral, gravidez, transplantes de medula óssea e órgãos sólidos, cirurgias gástricas, rápida perda de peso e terapias com drogas, como a ceftriaxona (ABEYSURIYA et al., 2010). Em cães, os fatores predisponentes relatados estão associados à senilidade, estase biliar, doenças hepatobiliares e endócrinas (QUINN & COOK, 2009).

Para ser considerado normal, o conteúdo da VB deve apresentar-se anecoico ao exame ultrassonográfico. Na presença de lama biliar, esta é definida como sedimento ecogênico, não formador de sombra acústica (BRÖMEL et al., 1998). A lama é, então, movél, e às vezes pode dar a impressão de ser um agregado, mimetizando uma massa de tecido mole. É importante considerar que o movimento da substância ecogênica deve responder à gravidade, e uma boa forma de atestar tal mobilidade é reposicionando o paciente. A mobilidade da lama biliar é uma das características que contribuem para diferenciá-la de mucocele (PENNINCK & D'ANJOU, 2011; FUERST et al., 2019).

3.6 Colelitíase

A colelitíase é uma condição caracterizada por apresentar cálculos, também chamados de colélitos ou microcolélitos, no interior da VB, no sistema ductal intra-hepático e/ou extra-hepático. A maioria dos cães que apresentam colelitíase são assintomáticos e os colélitos são identificados incidentalmente durante procedimentos de diagnóstico por imagem ou exame *post-mortem* (ARIAS et al., 2001). Já as microlitíases, também identificadas pelo exame ultrassonográfico, são caracterizadas por um acúmulo de colesterol mono-hidratado, cristais ou grânulos de sal de cálcio incorporados ao muco vesical, e são precursoras na formação de colélitos maiores (LEE et al., 1991). Em humanos, a colelitíase é a principal doença do trato biliar que oferece risco de morte ao paciente. As obstruções podem ocorrer de forma intra ou

extra-hepática e podem estar associadas à ocorrência de colecistite e pancreatite (LERCH et al., 2016).

O desenvolvimento de colelitíase é multifatorial. Em humanos, os fatores de risco não modificáveis incluem idade, sexo, etnia e fatores genéticos. Os fatores modificáveis incluem dieta, obesidade e uso de certos medicamentos (SHAFFER, 2006). Foi observado que o risco de desenvolvimento de cálculos aumenta significativamente em pacientes idosos (STINTON & SHAFFER, 2012). Em relação à etnia, foi identificado que a tribo Pima, do Arizona (EUA), tem a maior prevalência de cálculos biliares do mundo (LA MONT et al., 1984). Em relação ao sexo, considerando-se toda a população global, mulheres nos seus anos férteis são quase duas vezes mais predispostas a desenvolver cálculos biliares do que homens (SHAFFER, 2006). O aumento de estrogênio e progesterona para a contracepção pode levar ao aumento da secreção de colesterol e à diminuição da secreção de sais biliares, enquanto a progesterona age na redução do movimento da VB, resultando na formação de colélitos (ETMINAN et al., 2011).

As concentrações séricas de leptina (hormônio peptídico) em pacientes humanos também predis põem a colelitíases. Poucas informações estão disponíveis sobre a correlação entre leptina e colelitíase em cães. Investigações sobre a relação entre leptina, hiperlipidemia e cálculos biliares mostraram algumas associações. Entretanto, estas associações ainda não estão claras (LEE et al., 2017).

A formação do cálculo de colesterol está diretamente relacionada aos fatores fisiopatológicos da litíase biliar, que envolvem a hipersaturação hepática de colesterol e o tempo de nucleação. Outros fatores considerados relevantes para a formação das litíases são a hipomotilidade da VB e a hipomotilidade intestinal, que fazem com que os microcristais de colesterol sejam retidos e transformem-se em colélitos (PORTINCASA et al., 2008). Enquanto os cálculos biliares de colesterol induzidos pela dieta são comuns em humanos, os colélitos caninos são compostos principalmente de bilirrubinato de cálcio associado à bilirrubina (TOBIAS et al., 2013). Contudo, cálculos de colesterol e bilirrubina também são evidenciados com menor frequência em cães (VAN GEFFEN et al., 2008). Embora a etiopatogenia exata da colelitíase em cães não seja clara, com base em estudos com humanos e animais experimentais, foi sugerido que a motilidade diminuída da VB, a secreção excessiva de mucina e a absorção alterada de compostos da VB estão envolvidas na patogênese (SWARTZ-BASILE et al., 2007).

Dentre os procedimentos de imagem, o exame ultrassonográfico abdominal é o exame mais sensível para a detecção de colélitos (YILDIZ et al., 2019), tendo em vista que o exame radiográfico simples não é considerado eficaz na identificação dos processos obstrutivos das vias biliares – uma vez que os colélitos, em sua maioria, são radiotransparentes (KEALY et al., 2012).

Na avaliação ultrassonográfica da VB, os achados encontrados nos casos de colelitíase podem estar associados à visibilização de estruturas de superfície lisa e hiperecogênica formadoras ou não de sombreamento acústico posterior. O sombreamento acústico posterior pode se tornar mais evidente à medida que o tamanho e o teor de cálcio dos colélitos aumentam. Utilizar transdutores de maiores frequências pode auxiliar na visibilização do sombreamento acústico (VAN GEFFEN et al., 2008). Em alguns casos de colelitíase, a parede da VB pode ficar espessa devido ao processo inflamatório gerado pela presença dos colélitos (HARVEY et al., 2007). A incidência e taxa de diagnóstico de colelitíase aumentaram nos últimos anos. Porém, a taxa de mortalidade associada à cirurgia em cães ainda é alta (YOUN et al., 2018).

3.7 Mucocele da vesícula biliar

A mucocele da VB é caracterizada pelo acúmulo de conteúdo biliar denso (lama biliar) VB, que pode resultar em colestase e afetar a integridade da parede da vesícula biliar (FEENEY et al., 2008). Historicamente, a mucocele da VB tem sido associada a taxas de mortalidade de 22% a 40%. No entanto, a taxa de mortalidade tem melhorado em pacientes caninos que sobrevivem ao pós-cirúrgico de colecistectomia (PARKANZKY et al., 2019).

A etiopatogenia da mucocele da VB em cães é incerta e provavelmente multifatorial. Diversos relatos descrevem um aumento da prevalência de mucocele da VB em pacientes caninos endocrinopatas, tais como hiperadrenocorticismos, hipotireoidismo e hiperlipidemia (UETSU et al., 2017; BOULLHESEN et al., 2019).

Entre as raças mais predispostas a desenvolver mucocele da VB, encontram-se Shetland Sheepdog, Cocker Spaniel Americano, Chihuahua, Pomerânia e Schnauzer Miniatura (KUTSUNAI et al., 2014). Uma mutação na inserção do gene ABCB4 foi inicialmente ligada à formação de mucocele da VB no Shetland Sheepdog (CULLEN et al., 2009).

Avaliações feitas em cães também demonstram que o aumento de leptina acima das concentrações séricas está associado à mucocele da VB e à formação de colelitíases (LEE et al., 2016). A mucocele da VB pode formar-se secundária à hiperplasia mucinosa cística, que resulta em maior secreção de mucina e/ou reabsorção de muco. A bile fica espessa e o fluxo biliar reduz (BESSO et al., 2000).

À análise histopatológica da mucocele da VB, identifica-se hiperplasia e hipertrofia da mucosa, formando projeções do epitélio cilíndrico simples, que se estendem para o lúmen da VB e formam cistos repletos de muco (BENNETT et al., 2007).

No processo de avaliação ultrassonográfica da mucocele da VB, podemos destacar o tamanho e formato da VB e a presença de conteúdo centralizado imóvel no lúmen da VB. O conteúdo intravesicular pode estar associado ao sinal de padrão estrelado visto em fase de mucocele inicial, seguido pelo aparecimento de estrias hiperecogênicas que fazem alusão à fruta kiwi (PENNINCK & D'ANJOU, 2011).

As partículas de muco imóvel podem se desprender da parede da VB e aparecer como estruturas hipocogênicas flutuantes no sedimento biliar. A parede da VB também pode se apresentar espessa, hiperecótica e irregular em casos de edema de parede, inflamação ou necrose (NYLAND et al., 2015). A descontinuidade da parede da VB é um sinal importante de ruptura, juntamente com a presença de esteatite focal e de líquido livre periférico (WOODS et al., 2012).

Existe, também, a classificação de diferentes padrões de mucocele biliar ao exame ultrassonográfico. Tais padrões estão descritos em três estágios diferentes, que foram classificados de acordo com a distribuição do conteúdo ecogênico. No estágio 1 (um), a bile apresenta-se apenas imóvel e ecogênica. O estágio 2 (dois) é caracterizado pela presença do padrão estrelado. Finalmente, o estágio 3 (três) caracteriza-se pela presença do padrão estriado da VB (BESSO et al., 2000).

É importante ressaltar que em geral, os achados clínicos e dificilmente implicam em sinais clínicos específicos, porque frequentemente estes são discretos, temporários e recidivantes. Sinais como a icterícia é mais notada quando há a presença de significativa lama biliar ou cálculos causando a obstrução do ducto biliar. Também podem ser notados vômito, depressão, perda de peso, febre, desidratação, fezes acólicas e dores abdominais associadas à colecistite ou obstrução do ducto biliar (WILLARD & FOSSUM 2005).

Dentre as formas de tratamento utilizadas nos casos de mucocele da VB, a remoção cirúrgica (colecistectomia) ainda é o método mais indicado, devido aos riscos de obstruções extra-hepáticas e rupturas. Entretanto, estudos demonstram que o uso de N-acetilcisteína pode degradar a mucina e tornar a bile menos espessa. A confirmação desse tratamento ainda não foi consolidada para a medicina veterinária e mais estudos devem ser feitos para avaliar sua eficácia. Contudo, estudos em medicina humana demonstram boas respostas ao uso de N- acetilcisteína (BOULLHESEN et al., 2019).

3.8 Hiperplasia da vesícula biliar

A hiperplasia da VB é também conhecida como hipertrofia mucinosa cística (HMC)², hiperplasia mucinosa cística e colecistite mucinosa. Embora não seja uma lesão inflamatória, a HMC é caracterizada por apresentar áreas císticas nas glândulas produtoras de muco presentes na camada mucosa da VB. A hiperplasia foi descrita como uma lesão incidental em cães (BERGMAN et al., 1985).

Essas lesões hiperplásicas são rotineiramente identificadas em cães com mucocele da VB, nos quais as estruturas císticas são preenchidas por mucina viscoelástica tenaz. A hiperplasia mucinosa cística da VB é um achado incomum e é provavelmente subdiagnosticada ao exame ultrassonográfico das vias biliares (CULLEN, et al.,2009). As anormalidades da VB relacionadas à hiperplasia podem passar despercebidas durante a análise macroscópica da VB (ROTHUIZEN & TWEDT, 2010). Porém, após sua avaliação histopatológica, visualizam-se numerosos espaços císticos de tamanhos variáveis (1mm a 3mm) e com grande quantidade de muco, que distorcem a mucosa da glândula e são responsáveis pelo aspecto microscópico característico desta afecção (CULLEN & STALKER, 2016).

Uma das doenças associadas à hiperplasia da VB em humanos é chamada de adenomiomatose, ou doença diverticular da VB. Esta é uma condição degenerativa caracterizada pela hiperplasia da mucosa da parede da VB. As anormalidades podem ser difusas, segmentares ou mesmo localizadas, formando nódulos (adenomiomas). Pouco se sabe sobre a sua etiologia. Uma das hipóteses para o aparecimento dessa

² Neste trabalho, a sigla HMC será usada para se referir à hipertrofia mucinosa cística.

afecção é a ocorrência de contração muscular anormal e consequente aumento da pressão intraluminal (ORTIZ et al., 2018).

Os achados ultrassonográficos relacionados à hiperplasia da VB são semelhantes às alterações encontradas em colecistite e mucocele inicial, que incluem o espessamento da parede da VB. Este espessamento da VB pode relacionar-se também com, edema de parede associado hipertensão portal, hipoalbuminemia e com obstrução biliar. Além disso, o espessamento da parede – ainda que raramente – pode estar associado a processos neoplásicos (HITTMAYER et al., 2001; GAILLOT et al., 2017).

3.9 Colecistite

A colecistite é uma doença inflamatória da VB. Rara em cães (KAHN et al., 2013), geralmente ocorre em animais idosos e aparentemente não apresenta predisposição de sexo e raça (COSTA, 2018). Sua etiopatogenia está associada a infecções ascendentes do intestino delgado, propagação hematogena por infecções sistêmicas, colelitíase, anomalias relacionadas ao esfíncter de Oddi e neofomações na VB (GOMEZ-PINILLA et al., 2007). Erosão e ulcerações podem estar presentes e comprometer a integridade estrutural da parede da VB, predispondo a rupturas e, em consequência, peritonite biliar (CHOI et al., 2013).

Em cães, a colecistite necrosante pode se desenvolver secundariamente à tromboembolia, trauma abdominal contuso, mucocele, infecção bacteriana, obstrução de ducto cístico por cálculo biliar e/ou neoplasias (KAHN et al., 2013; LAWRENCE et al., 2015;). Já a colecistite enfisematosa está associada a pacientes diabéticos (LALLEMAND et al., 2003). Na avaliação das lâminas histológicas, os estágios mais crônicos de colecistite desenvolvem infiltrados inflamatórios mistos, com fibrose. Ocasionalmente, o infiltrado pode ser predominantemente linfoplasmocítico, com formação linfóide e folículos na mucosa. Já o infarto da VB é caracterizado por necrose coagulativa transmural da parede da VB e pode conter áreas de fibrina intravascular (CALLAHAN et al., 2011).

A colecistite apresenta diversas aparências ultrassonográficas e pode estar associada a processos inflamatórios agudos ou crônicos. A presença ou ausência de colélitos pode classificá-la como colecistite calculomatosa ou acalculomatosa, respectivamente (NYLAND et al., 2015). Em processos agudos, a parede da VB pode

apresentar uma imagem de dupla parede, frequentemente vista em casos de edema de parede, o que não caracteriza um achado exclusivo de colecistite, pois este pode estar associado a outras alterações da VB, como a colangite e a colangiohepatite. O recurso Doppler colorido pode ser utilizado na avaliação de colecistite aguda em cães, em que a ausência de fluxo biliar no processo de colecistite inicial pode levar à ruptura da parede da VB (BARBOSA et al., 2011).

Em casos crônicos, pode ser observada a hiperecogenicidade difusa da parede da VB, e algumas vezes esta hiperecogenicidade pode estar associada à mineralização distrófica da parede (WOODS et al., 2012).

Em humanos, a colecistite crônica geralmente mascara as neoplasias malignas da VB, tornando o diagnóstico pré-cirúrgico mais difícil. Porém, o desenvolvimento da complicação de colecistite aguda pode contribuir para um diagnóstico precoce do câncer (BALAMURALI & RESHMA, 2017; TORRES et al., 2018).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG), no período de 20 de janeiro a 21 de agosto de 2019.

4.1 Animais

Foram avaliados 60 cadáveres de cães sem predileção de sexo, idade e raça, admitidos na rotina do setor de Patologia Veterinária da EV-UFMG. Todos os cães incluídos neste projeto foram adequadamente refrigerados por no máximo 72 horas em câmara fria, a uma temperatura de 0°C a 2°C. Os critérios utilizados para exclusão foram: significativo estado de autólise – que interfere e impossibilita a avaliação macro e microscópica dos cadáveres –, bem como amostras de VB que, ao exame microscópico das lâminas histológicas, não apresentam camada epitelial íntegra.

4.2 Procedimentos

Após a retirada dos cadáveres da câmara fria, foi realizada, de maneira criteriosa e cautelosa, a retirada do fígado e das vias biliares para a realização do exame ultrassonográfico e a avaliação macroscópica da VB e do fígado, seguida pela coleta e avaliação histopatológica da VB. Optou-se pela retirada da peça anatômica dos cadáveres para realizar a avaliação ultrassonográfica com maior acurácia, com o intuito de diminuir a interferência dos efeitos do resfriamento da câmara fria instituído nos cadáveres.

4.2.1 Exame ultrassonográfico do fígado e da vesícula biliar

O exame ultrassonográfico da VB foi feito com o equipamento M5, Mindray, transdutor linear de 7,5 a 10MHz. A escolha da frequência variou de acordo com as necessidades individuais da peça anatômica. O contato do transdutor com as peças foi otimizado por meio de aplicação de gel condutor.

As mensurações para verificar a espessura das paredes ventrais e dorsais foram realizadas no corpo da VB (DEMONACO et al., 2016). Valores de espessura

maiores que 1 (um) mm foram considerados como espessamento da parede de VB (HITTMAYER, 2001).

Para a análise do conteúdo biliar pelo exame ultrassonográfico foi realizada a graduação da ecogenicidade do conteúdo, classificando-o como anecogênico, ecogênico e hiperecogênico. Conteúdos biliares avaliados ultrassonograficamente de aspecto anecogênico foram classificados como conteúdo biliar sem alteração. Enquanto conteúdo ecogênicos de aspecto móvel foram classificados como lama biliar. Afecções como a mucocele da VB foi definida pela presença de conteúdo ecogênico centralizado no lúmen vesical, seguido pela aparência de estriações radiadas hiperecoicas e imóveis, associadas ou não ao espessamento da parede da VB (BESSO et al., 2000).

A dupla parede foi determinada pela presença de espessamento, associado a diferentes ecogenicidades entre as camadas da parede da VB (PENNINCK et al., 2011).

Os colélitos foram identificados como estruturas de superfície lisa e hiperecogênica formadoras ou não de sombreamento acústico posterior no interior da VB (NYLAND et al., 2015).

Na ausência das alterações supracitadas para espessamento ou dupla parede, mucocele, colecistite, colélitos e lama biliar, a peça anatômica foi identificada como estando dentro dos padrões de normalidade.

4.2.2 Inspeção macroscópica da vesícula biliar

A inspeção macroscópica da VB foi realizada após o exame ultrassonográfico, seguindo uma sequência lógica em que se avaliou o volume de conteúdo intravesical, a localização de possíveis lesões e a presença de grumos e/ou colélitos no conteúdo biliar.

Para a coleta do conteúdo biliar, foi realizado o clampeamento do ducto cístico com pinça hemostática de Halstead e posterior remoção da VB do lobo hepático. Após a remoção da VB, o clampeamento do ducto cístico era desfeito e seu conteúdo depositado em um frasco coletor universal. Seu volume foi graduado utilizando uma seringa descartável de 10 microlitros (ml).

Os grumos ou colélitos foram observados macroscopicamente quando o conteúdo da VB era colocado no frasco coletor universal. Foram considerados grumos

pequenas partículas em suspensão de diferentes tonalidades presentes no conteúdo biliar. Os colélitos foram caracterizados por apresentar tamanhos maiores que 2 (dois) mm a 3 (três) mm, formato ligeiramente arredondado e superfície endurecida (PELEGRINI, 2015). E, para a confirmação diagnóstica de colélitos, foram utilizadas ferramentas de diagnóstico complementares, como as análises físico-químicas da amostra. Estas análises foram realizadas em um laboratório privado de análises clínicas, o Hermes Pardini, localizado em Belo Horizonte.

Após o completo esvaziamento do conteúdo intravesical, a VB foi aberta com tesoura cirúrgica a partir do orifício do ducto cístico até o corpo da VB. Dessa forma, foi possível avaliar a presença de lesões macroscópicas, como espessamentos da parede da VB e nodulações focais na parede.

4.2.3 Exame histopatológico

Após a abertura e inspeção da VB, a mesma foi fixada em formol tamponado a 10% e armazenada por, no mínimo, 48 horas. Para a realização dos cortes histológicos, foram seccionados três segmentos, que correspondiam ao fundo, corpo e colo da VB. No processo de clivagem da peça, esta passou por três fases: desidratação, clareamento e impregnação. Na desidratação, retirava-se todo o líquido presente no órgão por meio de infiltração em diferentes concentrações de álcool etílico, que começava no álcool 70% em água e ia até o álcool absoluto ou 100%. Na etapa de impregnação da parafina nos tecidos, era necessário retirar o álcool antes, pois a parafina não se mistura bem com tal substância. Para isso, usou-se o xilol, que substitui o álcool nos tecidos. Os tecidos ficavam mais claros, concluindo a clarificação ou diafanização (ALVES, BACCHI, VASSALO & MELO, 1999).

Para a montagem dos blocos processados de parafina, os fragmentos obtidos após o processamento eram imersos em parafina líquida. Para a inclusão tecidual, era necessário que a parafina estivesse aquecida entre 56°C e 60°C, por apresentar-se líquida apenas nessas temperaturas. Os fragmentos eram emblocados em parafina com o auxílio de pinças. E, após o resfriamento da parafina, o bloco estava pronto para a microtomia. Para a realização da microtomia, os fragmentos de tecidos contidos nos blocos solidificados eram levados para o micrótomo, a fim de se obter cortes de 4 (quatro) µm de espessura, realizados por meio do uso de navalhas afiadas.

Após a realização do corte, esses fragmentos foram colocados em lâminas de vidro e levados para o processo de coloração do tecido. foi baseada no seguinte protocolo: primeiramente, realizava-se a desparafinização em xilol II por 10 minutos; após, fazia-se uma sequência de processos – hidratação com álcool etílico a 80% por 5 minutos, lavagem em água por até 3 minutos, imersão da lâmina na Hematoxilina por 3 minutos, lavagem em água corrente por até 3 minutos, imersão da lâmina em Eosina por 5 minutos, lavagem da lâmina em água corrente por 2 minutos e, finalmente, fazia-se o processo de desidratação em álcool etílico 100% por 5 minutos. Para a fixação do corante e conservação do material, a lâmina era, então, imersa em xilol por mais 5 minutos. Após completo o processo de coloração das lâminas, elas estavam aptas para a avaliação microscópica (ALVES, BACCHI, VASSALO & MELO, 1999). A avaliação histopatológica foi realizada a cegas por dois profissionais residentes em patologia veterinária. As doenças classificadas como HMC e mucocele, foram classificadas de acordo com a sua descrição histológica, onde o tamanho e o número das glândulas mucinares foi o fator considerado para a identificação destas afecções. Para a determinação da análise histopatológica considerou-se HMC cursa com a hiperplasia difusa do epitélio da VB, com a presença de pouca a moderada quantidade de muco acumulado. Isso faz com que uma área maior da parede da VB apresente-se espessa. A mucocele, por sua vez, forma dilatações distribuídas aleatoriamente ao longo do epitélio da VB e apresenta significativa dilatação das glândulas mucinares, com maior acúmulo de muco (HITTMAYER et al., 2001; CULLEN, et al., 2009; GAILLOT et al., 2017).

4.2.4 Análise estatística

Analisou-se a correlação entre os dados obtidos no exame histopatológico e os dados coletados no exame ultrassonográfico. Esses dados relacionavam-se à presença ou ausência de dupla parede, caracterização da ecogenicidade do conteúdo biliar e presença ou ausência de HMC e mucocele da VB. Para estimar o grau de concordância entre as variáveis obtidas através dos exames ultrassonográfico e histopatológico, utilizou-se o teste de concordância de Kappa (SILVA E PAES, 2012). Para as demais análises estimou-se o grau de concordância entre as variáveis ultrassonográficas e histopatológicas, como as correlações de espessura de parede com HMC e mucocele e a ecogenicidade de conteúdo intavesical com HMC, mucocele e lama biliar, aplicou-se os testes de Wilcoxon-Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn. Para avaliar a associação entre duas variáveis, calculou-se a correlação não paramétrica de Spearman. Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software R versão 3.6.1 (R Core Team, 2019). Alterações encontradas em apenas um caso não foram incluídas nas análises. Contudo, foi realizada a avaliação descritiva.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, foram utilizadas 60 peças anatômicas de VB provenientes de cadáveres caninos (33 machos e 27 fêmeas). Estas peças foram avaliadas tanto ao exame ultrassonográfico quanto ao exame histopatológico. Dentre essas 60 peças, 35% (21/60) apresentaram diagnóstico histopatológico de mucocele, 33,3% (20 peças) não apresentaram nenhum tipo de alteração e 30% (18/60) apresentaram hiperplasia mucinosa cística da VB. E apenas 1,7% (1/60) apresentou alterações histopatológicas compatíveis com colecistite. Os dados do texto constam na figura 1.

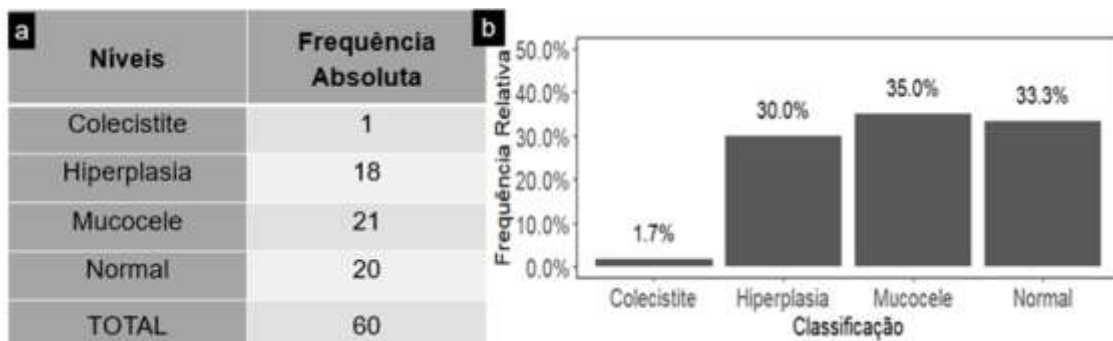


Figura 1: Representação da frequência das principais afecções encontradas no exame histopatológico da VB de 60 peças anatômicas de VB de cães provenientes do Setor de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG. (a) Tabela representando a frequência absoluta das principais afecções encontradas neste estudo. (b) Gráfico representando a frequência relativa das principais afecções encontradas no estudo.

Com este estudo, foi possível observar que as afecções histopatológicas destacadas estão parcialmente em concordância com os dados encontrados na literatura, posto que as principais doenças da VB relatadas por Center (2009) incluem apenas colecistite e mucocele da VB – não considerando a HMC de forma isolada como uma afecção comumente encontrada. As lesões hiperplásicas podem até ser comuns em cães; entretanto, frequentemente estão associadas à mucocele (BERGMAN, 1985; BOULLHESEN et al., 2019). Estudos mostram que os baixos índices de diagnósticos de HMC na medicina veterinária podem ser explicados por sua semelhança aos achados ultrassonográficos da colecistite e da mucocele (GAILLOT et al., 2007; ROTHUIZEN & TWEDT, 2010; CALLAHAN et al., 2011). Outro fator que pode ter contribuído para o subdiagnóstico da HMC é a falta de estudos a seu respeito na literatura (CULLEN & POOP, 2009).

Os dados apresentados a seguir refletem os achados do teste de confiabilidade de Kappa. E para a realização desta análise de concordância, foi feito o cruzamento dos achados do exame ultrassonográfico com os achados do exame histopatológico.

Objetivando determinar a intensidade da concordância entre os resultados dos exames de um modo geral, iniciaram-se os cruzamentos Kappa com os dados gerais do estudo. Para a obtenção dos primeiros dados, considerou-se apenas a presença ou ausência de alterações nos dois exames supracitados. Este resultado demonstrou que 83% dos dados obtiveram concordância e que o nível de concordância no teste de Kappa foi de 0,63, o que é um valor substancial. Em comparação, a concordância de Kappa nas afecções estudadas estas apresentaram uma correlação relativamente baixa. Para a mucocele da VB, encontrou-se uma concordância de 65% com o valor de Kappa de 0,23; nos casos de colecistite e HMC, a concordância do teste foi de 56,67% e o valor de Kappa obtido foi de 0,061. Estes dados estão apresentados na tabela de contingência da Figura 2 (a) e (b).

	Exame ultrassonográfico	Exame histopatológico	Teste de Kappa
Normal	23	20	83% (0,63)
Mucocele	22	21	65% (0,23)
Hiperplasia e Colecistite	15	19	56,57% (0,061)

Figura 2: Tabela de contingência representando a análise estatística de Kappa com os dados gerais obtidos, considerando apenas a presença ou ausência de alteração nos exames ultrassonográficos e histopatológicos. Constam também os dados encontrados em cada afecção de forma individual, correlacionadas com os mesmos dois exames. A frequência (%) indica a concordância entre os dados, e o valor entre parênteses corresponde ao valor de Kappa. Valores de Kappa próximos a zero indicam nenhuma concordância; valores de Kappa próximos a um indicam concordância quase perfeita.

Pode-se perceber que existe uma concordância substancial no diagnóstico de alterações observadas através dos exames ultrassonográficos e histopatológicos, quando relacionamos apenas o diagnóstico de alterado e não alterado. Entretanto, quando comparamos as alterações individuais de mucocele, HMC e colecistite, a concordância do teste de Kappa apresenta-se mais baixa. Com estes resultados, pode-se afirmar que o exame ultrassonográfico é uma ótima ferramenta para identificar a presença ou ausência de alterações relacionadas à VB, diferenciando, assim, um animal enfermo de um animal não enfermo (ORO et al., 2010). Dessa

forma, podemos interpretar que o exame ultrassonográfico pode direcionar os clínicos veterinários na tomada de decisão frente aos diferentes tratamentos, e este direcionamento, por sua vez, pode levar à redução da frequência de procedimentos cirúrgicos relacionados à VB (BESSO et al., 2000; WOODS et al., 2012; ORTIZ et al., 2018).

Para as demais análises histopatológicas e ultrassonográficas realizadas neste trabalho, testes estatísticos não paramétricos foram realizados, e às correlações encontradas serão descritas detalhadamente abaixo.

O primeiro dado obtido ao exame histopatológico e correlacionado aos achados ultrassonográficos foi a espessura da parede da VB. Avaliando este dado, observou-se uma associação significativa entre a espessura da parede da VB obtida por meio de exame ultrassonográfico e sua classificação histopatológica. Esta avaliação demonstrou que a hiperplasia mucinosa cística da VB apresentou valores predispostos mais elevados quando comparada à mucocele e à VB normais, conforme exemplificado na Figura 3.

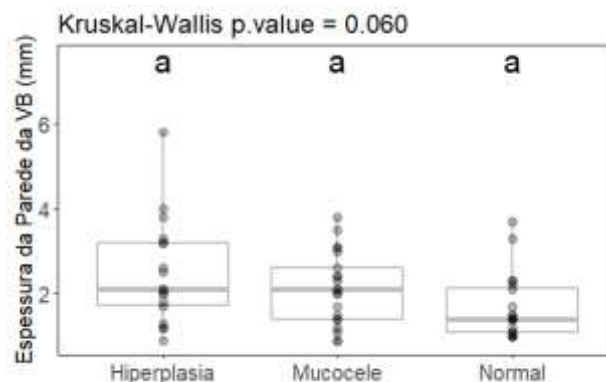


Figura 3: Gráfico representando a associação entre a espessura da parede da VB e as classificações histopatológicas. São apresentados os valores mensurados (pontos) sobrepostos aos *boxplots*. O valor (p) dos testes se encontra acima dos gráficos. As letras acima de cada grupo representam as comparações múltiplas (teste par-a-par). É possível observar que a hiperplasia mucinosa cística da VB apresentou valores mais elevados quando comparada à mucocele e à VB normais.

Foi realizada uma correlação mais acurada para comparar a espessura da parede da VB ao exame ultrassonográfico, a qual demonstrou que quando estreitamos as correlações e avaliamos apenas a mucocele e a HMC da VB, pode-se verificar uma diferença de 5% de significância. Nesta avaliação, as classificações compatíveis com alterações forneceram valores mais elevados do que as classificações dadas como normais. O gráfico a seguir (figura 4) demonstra as associações feitas em dois grupos:

grupo alterado com amostras positivas para mucocele e hiperplasia e grupo normal com amostras sem alterações.

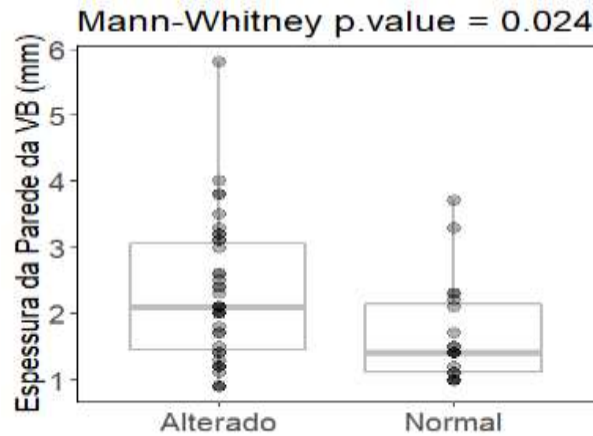


Figura 4: Gráfico representando a associação entre a espessura da parede da VB e as classificações histopatológicas de peças alteradas (com hiperplasia mucinosa cística e mucocele da VB) e peças sem alterações. São apresentados os valores mensurados (pontos) sobrepostos aos *boxplots*. O valor (p) dos testes se encontra acima do gráfico. As legendas de “alterado” e “normal” representam as comparações múltiplas (teste par-a-par).

Apesar de o presente estudo não confirmar uma correlação fidedigna entre a espessura da parede da VB ao exame ultrassonográfico e sua classificação histopatológica, percebeu-se uma tendência entre os animais que se enquadram como portadores de HMC ao exame histopatológico de apresentarem a parede da VB mais espessa quando comparada à mucocele. A imagem ultrassonográfica (a) e os cortes histopatológicos (b e c) relacionados à HMC estão demonstrados na figura 5.

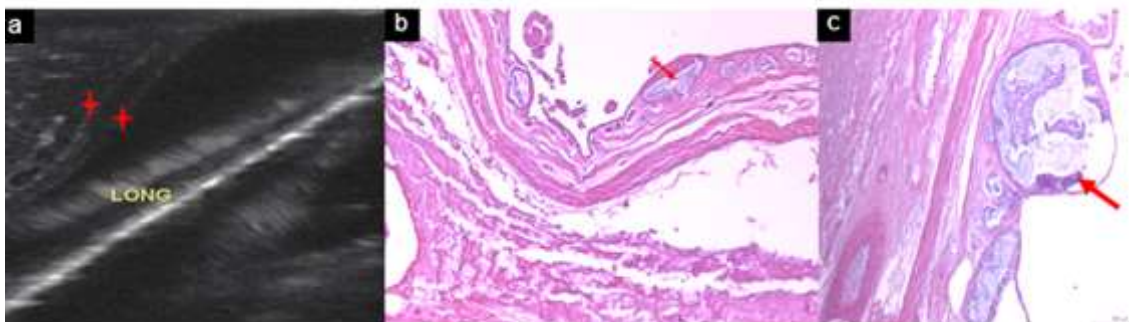


Figura 5: Imagem ultrassonográfica em corte longitudinal de uma peça anatômica de VB de um cão de médio porte. (a) Nota-se parede da VB espessa medindo 3,3 mm (entre asteriscos vermelhos), além de dupla parede consistente com edema. O conteúdo intravesical apresenta-se anecoico. (b) Corte histológico da VB do mesmo paciente, mostrando hiperplasia das células mucinares na camada mucosa. As glândulas mucinares apresentam ectasia multifocal e estão repletas por moderada quantidade de conteúdo mucinar (seta vermelha), (Coloração de HE, 500 μ m). (c) Corte histológico do mesmo fragmento demonstrando glândula mucinar com significativa quantidade de conteúdo mucoso intraluminal (seta vermelha), (Coloração HE, 200 μ m). Fonte: Setores de Diagnóstico por Imagem e Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFGM).

Estudos feitos na medicina humana relatam que o espessamento da VB foi por muito tempo considerado um sinal altamente sugestivo de colecistite (BARBOSA et al., 2011). Entretanto, para explicar o fato de que a HMC apresentou maior associação com o espessamento da parede da VB, considerando os critérios já utilizados para a identificação destas patologias descritos na metodologia, devemos considerar que a HMC cursa com a hiperplasia difusa do epitélio da VB, com a presença de pouca a moderada quantidade de muco acumulado, equanto a mucocele, forma dilatações distribuídas aleatoriamente ao longo do epitélio da VB e apresenta significativa dilatação das glândulas mucinares, com maior acúmulo de muco (HITTMAIR et al., 2001; CULLEN, et al., 2009; GAILLOT et al., 2017). Quando comparamos os casos de mucocele e HMC, podemos relacionar esse dado com o estudo de Cullen (2009), que descreveu que a HMC da VB é um achado incomum e é provavelmente subdiagnosticada frente ao exame ultrassonográfico por desconhecimento desta afecção.

Com base nos dados obtidos neste estudo pela histopatologia e ultrassonografia, deve-se considerar o diagnóstico diferencial de hiperplasia mucinosa cística nos relatórios ultrassonográficos para o espessamento da parede da VB, uma vez que este não tem sido considerado um diagnóstico comum pela literatura veterinária.

Por sua vez, ao comparar a ecogenicidade do conteúdo da VB ao exame ultrassonográfico à classificação histopatológica, observou-se uma associação significativa entre essas variáveis. Observou-se que a prevalência de conteúdo anecoico classificado como normais foi maior. Em contrapartida, houve um predomínio de classificações de mucocele nas VB que apresentaram conteúdos hiperecogênicos, conforme exposto nas figuras 6 e 7.

	Hiperplasia	Mucocele	Normal	Total
Anecoico	9	9	18	36
Ecogenico	8	10	2	20
Hiperecoico	1	2	0	3
Total	18	21	20	59

Figura 6: Tabela de contingência, com as possíveis associações entre a ecogenicidade do conteúdo biliar atribuída pelo exame ultrassonográfico simples e a classificação histopatológica (padrão ouro).

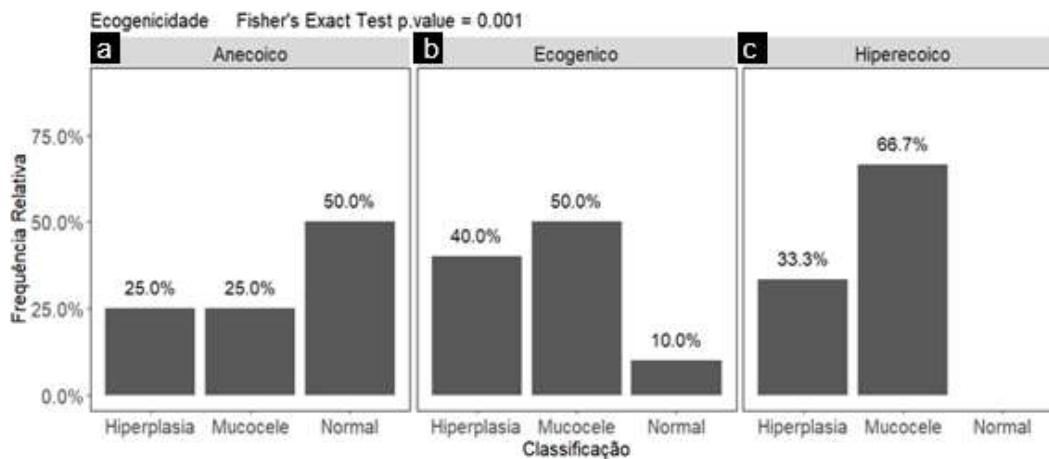


Figura 7: Gráficos representando a frequência relativa da ecogenicidade do conteúdo biliar, graduada pelo exame ultrassonográfico em relação às classificações histopatológicas de hiperplasia, mucocele e peças normais da VB. (a) Porcentagem de peças que mostraram conteúdo anecoico (b) Porcentagem de peças que mostraram conteúdo ecogênico. (c) Porcentagem de peças que mostraram conteúdo hiperecogênico.

As associações supracitadas apresentam alta aplicabilidade na rotina clínica e podem auxiliar na presunção histopatológica das afecções da VB, contribuindo não só para o processo de exclusão ou diagnóstico de algumas afecções biliares, como também para a sua qualificação diagnóstica. Estes dados permitem inferir que a visualização de conteúdo anecoico intravesicular possui uma alta capacidade de excluir diferentes afecções ligadas à VB. Em contrapartida, o conteúdo ecogênico – ou seja, a lama biliar – pode sugerir uma alteração precoce da VB, uma vez que na avaliação das VB normais, apenas 10% de conteúdo ecogênico apresentou normalidade. Não houveram VB com conteúdo hiperecogênico sem alteração. Pode-se observar, também, que conteúdos hiperecogênicos possuem correlação com uma das afecções mais graves da VB: a mucocele da VB (PAZZI et al., 2003; BENNETT et al., 2007; SAUCEDO & MARTINS, 2009).

Outro fator observado foi que 11,7% das vesículas avaliadas ultrassonograficamente apresentaram dupla parede, conforme mostram as figuras 8 (a e b). No entanto, não houve uma associação significativa entre os achados obtidos, como demonstrado na figura 9, uma vez que a dupla parede esteve presente na HMC, mucocele e em VB normais. O entendimento desta associação com vesículas normais possivelmente foi dificultado neste estudo porque as peças de VB foram avaliadas *post-mortem* e um pequeno grau de autólise era esperado. Tal fato pode ter

prejudicado a avaliação ultrassonográfica, subestimando ou superestimando a presença de dupla parede neste estudo. Esta hipótese é reforçada pelo fato de que 10% dos animais normais apresentaram imagem semelhante à dupla parede na análise ultrassonográfica.

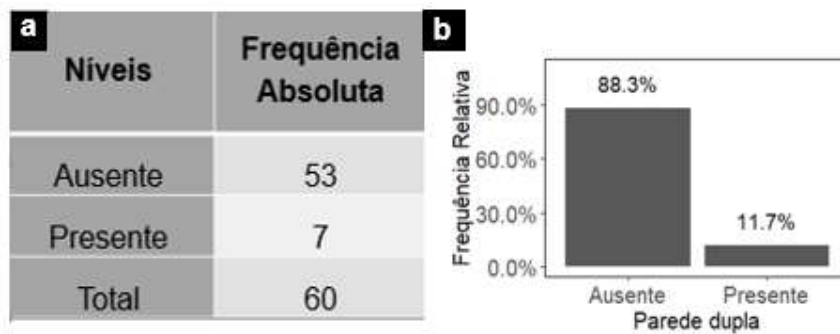


Figura 8: (a) Tabela de frequência relacionando a presença ou ausência de dupla parede de VB no exame ultrassonográfico. (b) Gráfico de frequência relativa de presença ou ausência de dupla parede, obtidas por meio de exame ultrassonográfico nas amostras de peças de VB coletadas em cães.

Tabela de Contingência				
	Hiperplasia	Mucocele	Normal	Total
Ausente	15	19	18	52
Presente	4	2	2	8
Total	18	21	20	59

Figura 9: Tabela de contingência relacionando a presença ou ausência de imagem semelhante à dupla parede no exame ultrassonográfico e as suas classificações histopatológicas em cães.

Em relação à mucocele da VB, também não houve uma associação significativa entre a sua presença ou ausência ao exame ultrassonográfico e a classificação histopatológica da VB (FEENEY et al., 2008; UETSU et al., 2017). Dessa forma, pode-se considerar que o exame ultrassonográfico realizado no presente estudo apresentou especificidade de 80% e sensibilidade de 50% para o diagnóstico de mucocele da VB. Mayhew et al. (2017), considerou o exame ultrassonográfico com uma ótima especificidade e sensibilidade para o diagnóstico de lesões biliares em cães com mucocele. Entretanto, Besso et al. (2000) e Woods et al. (2012) descreveram que a aparência ultrassonográfica da mucocele pode ter padrões variados, e estes padrões podem estar diretamente associados à gravidade dessa afecção.

Diante dos 21 casos de mucocele diagnosticados ao exame histopatológico, pode-se observar que a apresentação ultrassonográfica desta afecção foi variável, conforme descrito por Besso et al. (2000). A mucocele pode ser classificada em três estágios de acordo com a distribuição de seu conteúdo ecogênico. Desta forma, foi possível verificar que, na comparação entre o exame histopatológico e a ecogenicidade do conteúdo biliar mostrada pelo exame ultrassonográfico, notou-se que em 25% dos casos de mucocele, o conteúdo biliar apresentava-se anecogênico, conforme mostra a figura 7. Este fato pode justificar os diagnósticos subestimados de mucocele. Além disso, devemos considerar o fato de que a hiperplasia mucinosa cística é precursora da formação da mucocele da VB (ZWIEBEL, 1998; CHOI et al., 2013; PARKANZKY et al., 2019). Abaixo, segue uma imagem ultrassonográfica caracterizando a mucocele da VB, com a presença de padrão estrelado associado aos cortes histológicos das lâminas de uma mesma peça (Figura 10)

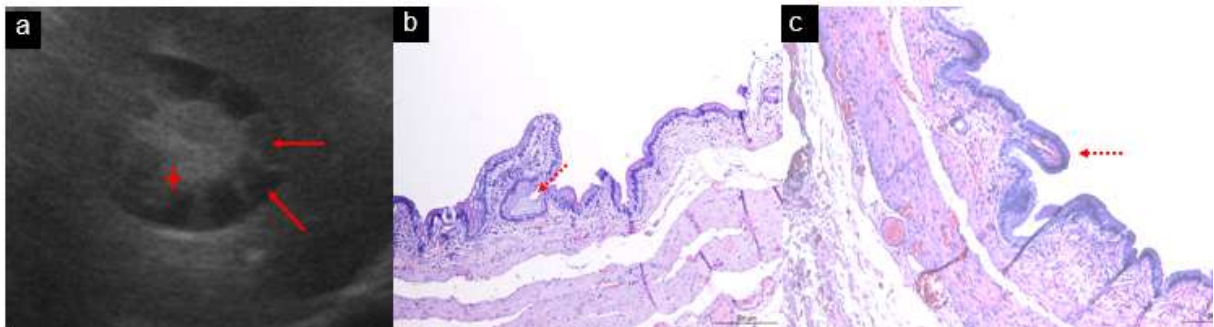


Figura 10: (a) Imagem ultrassonográfica em plano transversal de uma peça de VB de um cão de pequeno porte. Nota-se vesícula biliar distendida, apresentando lama biliar ecogênica na porção pendente do lúmen (asterisco), com aspecto de padrão estrelado. Presença de borda contínua e irregular variando de hipoecoica a anecoica visível na periferia interna da VB (seta vermelha), caracterizando mucocele da VB. (b) Corte histológico do mesmo paciente mostrando acúmulo de muco, projetando-se para o lúmen da VB (seta vermelha tracejada), (Coloração de HE, 200 µm). (c) Corte histopatológico da VB do paciente citado mostrando proliferação da mucosa, formando projeções epiteliais que se estendem ao lúmen da VB (seta vermelha tracejada), (Coloração de HE, 200 µm). Fonte: Setores de Diagnóstico por Imagem e Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG).

Dentre os diagnósticos histopatológicos encontrados neste estudo, observou-se a presença de colecistite em apenas um animal, caracterizando-se como caso isolado.

Contudo, podemos argumentar que a baixa incidência de colecistite no presente trabalho está em concordância com os dados da literatura, uma vez que essa afecção é rara em cães (KAHN, 2008). Além disso, a maioria dos animais analisados

neste estudo eram jovens ou adultos, e como a colecistite ocorre com mais frequência em pacientes idosos, essa baixa casuística é ainda melhor justificada.

Em relação à apresentação ultrassonográfica descrita na literatura, pode-se constatar que a colecistite apresenta sinais ultrassonográficos inespecíficos (GOMEZ-PINILLA et al., 2007; GAILLOT et al., 2017). Como visto neste caso de colecistite, a parede da VB apresentou-se espessa, medindo cinco mm. Além da espessura, visualizou-se um padrão de múltiplas camadas irregulares e com diferentes ecogenicidades. O conteúdo interno tinha aspecto anecoico, ou seja, ausência de visualização de lama biliar e/ou colélito. Segundo Choi et al. (2013), tal colecistite classificaria-se como acalculomatosa. La Mont et al. (2009) relataram que a hiperecogenicidade da parede da VB pode ser visualizada em casos de colecistopatia crônica. No entanto, devemos levar em consideração que processos inflamatórios agudos também cursam com o espessamento da parede da VB (BARBOSA et al., 2011).

Portanto, foi possível concordar com Torres et al. (2018) e Barbosa et al. (2011), que relatam que há uma forte tendência de associar o aumento da espessura da parede da VB à colecistite. Considerando que neste trabalho 30% dos casos analisados foram compatíveis com HMC, pode-se pressupor que esta alteração é, atualmente, um diagnóstico diferencial para os casos de espessamentos murais. Além disso, devemos considerar como diagnósticos diferenciais de colecistite todas as outras alterações de edema e necrose da parede da VB, que podem aparecer justamente em pacientes com outros sinais clínicos de base referentes a outras doenças que podem causar estas alterações (SPAULDING, 1993; HITTMAIR et al., 2011; GAILLOT et al., 2017). A figura 11 corresponde à imagem ultrassonográfica da VB e os cortes histopatológicos do único caso de colecistite diagnosticado neste estudo.

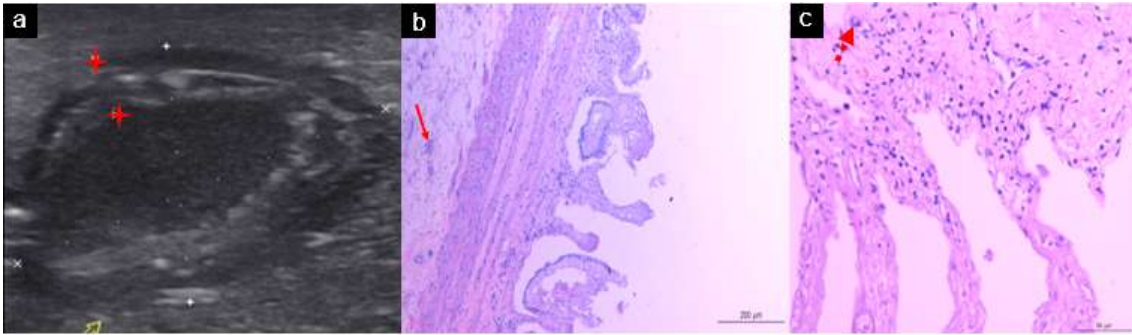


Figura 11: (a) Imagem ultrassonográfica em plano transversal de amostra da VB de um cão de pequeno porte, apresentando parede da VB espessa (5mm), associada a um padrão de múltiplas camadas irregulares e de diferentes ecogenicidades (entre cursores). Mostra a grave inflamação da parede, edema e necrose. (b) Corte histopatológico do mesmo paciente mostrando colecistite com infiltrado inflamatório. Nota-se infiltrado inflamatório crônico inespecífico em todas as camadas da VB, principalmente na lâmina própria e serosa (seta vermelha indicando infiltrado inflamatório em serosa), (Coloração de HE, 200 μ m). (c) Corte histológico demonstrando infiltrado inflamatório crônico (seta vermelha tracejada) em lâmina própria (Coloração de HE, 50 μ m). Fonte: Setores de Diagnóstico por Imagem e Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG).

Complementar à correlação entre os exames ultrassonográfico e histopatológico, em uma única peça pôde ser feita a correlação entre os achados ultrassonográficos e o diagnóstico do exame macroscópico *post mortem*. Nesta peça, foi possível realizar o diagnóstico de colelitíase. O colélito diagnosticado classificou-se como um composto de bilirrubina e ferro. A confirmação da composição do colélito foi obtida por meio do encaminhamento do material para análise bioquímica no Laboratório de Análises Clínicas Hermes Pardini ³ (Anexo 1). Na avaliação ultrassonográfica, este se apresentou como uma estrutura sólida, circunscrita, medindo 6,1mm x 3,0mm, com superfície ligeiramente irregular, com visibilização de halo hiperecogênico e, ao centro, demonstrava-se hipoecogênico. Embora de tamanho considerável, este colélito não formou imagem ultrassonográfica de sombreamento acústico posterior, e situava-se no lúmen da VB, conforme representado na figura 11 (a, b e c). Apesar de a caracterização de colélitos no exame ultrassonográfico abdominal geralmente ser definida pela presença de uma estrutura hiperecogênica de superfície lisa, formadora de forte sombreamento acústico posterior (VAN GEFFEN et al., 2008; YILDIZ et al., 2019), o único colélito encontrado no presente estudo não apresentou nenhum grau de sobreamento acústico. Tal achado pode ser explicado pela variabilidade na aparência de colélitos, que apresentam

³ Avenida Antônio Carlos, 7781, Pampulha, Belo Horizonte/MG, CEP: 31270-010.

diferentes graus de ecogenicidade e sobreamento acústico posterior, conforme relatado por Lee et al. (2017).

A diversidade de graus de ecogenicidade e sobreamento acústico pode estar relacionada aos componentes biliares envolvidos na formação dos colélitos (YILDIZ et al., 2019). Na literatura consultada, não há menção de uma correlação direta entre colélitos de bilirrubina e ferro e a presença ou ausência de sobreamento acústico posterior. O animal no qual foi encontrado o colélito enquadrou-se na categoria de normalidade histopatológica da parede da VB. Dada essa constatação, pode-se inferir que o colélito em questão ainda não havia provocado lesões murais. Como justificativa, a literatura descreve que colélitos em processo de formação no interior da VB muitas vezes não lesionam a parede da vesícula. Mas, com o acréscimo de componentes precipitados na bile e com a estase da VB, pode-se evidenciar colecistites calculomatosas (HARVEY et al., 2007; KAHN & LINE, 2013).

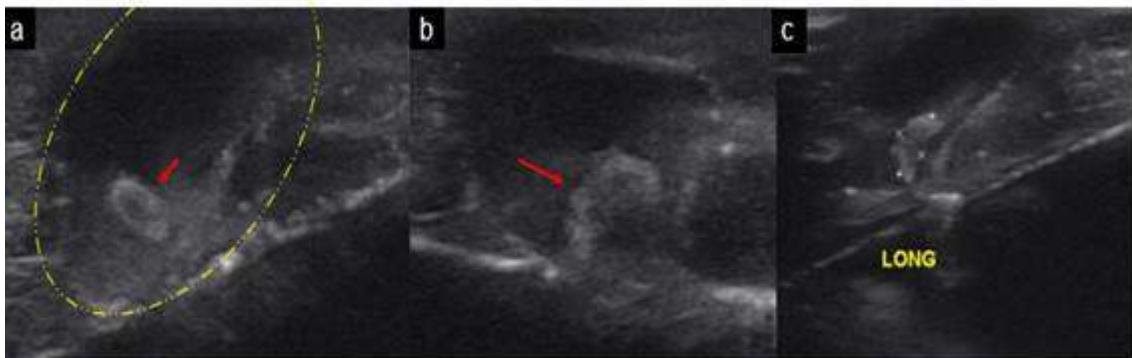


Figura 12: Imagens ultrassonográficas da VB de um cão de médio porte, filhote, mostrando um colélito de bilirrubina e ferro. (a) Plano transversal da VB mostrando estrutura sólida, circunscrita e regular, composta por um halo hiperecogênico com centro hipoeecogênico, não formador de sombra acústica, situado no lúmen da VB (seta vermelha). (b) Plano transversal mostrando irregularidade de superfície e hiperecogenicidade da mesma estrutura (seta vermelha). (c) Imagem ultrassonográfica do mesmo paciente mostrando a mensuração do colélito (6,1x3,0mm). Fonte: Setor de Diagnóstico por Imagem do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG).

Quanto à prevalência de litíases em cães e humanos, foi possível notar que humanos apresentam maior predisposição ao desenvolvimento de colélitos do que a espécie canina. Isto pode estar associado ao fato de que cães apresentam baixas concentrações de colesterol e cálcio livre no conteúdo biliar. Pode-se também associar a formação de colélitos em humanos a componentes específicos da dieta, como açúcares simples e gordura saturada (CENTER, 2009).

A análise do colélito diagnosticado foi importante pelo fato de que muitos profissionais ultrassonografistas ainda possuem dúvidas em relação ao

sombreamento acústico produzido por estas estruturas. Por isso, ressalta-se que os colélitos da VB podem não formar sombreamento acústico posterior (YILDIZ et al., 2019). Estudos já haviam relatado que, à medida que o tamanho e o teor de cálcio dos cálculos se tornam maiores, o sombreamento acústico posterior torna-se mais evidente (GAILLOTT et al., 2007). Segundo Portincasa et al. (2008), é importante considerar o tempo de nucleação como fator na formação dos cálculos biliares (SWARTZ-BASILE et al., 2007).

É extremamente importante pontuar que a alta incidência de afecções de VB encontradas neste estudo possivelmente não reflete a realidade epidemiológica dos cães atendidos no HV-UFMG, visto que as afecções hepatobiliares apresentam baixa prevalência em cães (CHEBLI et al., 2000). Uma das prováveis justificativas para o diagnóstico de hiperplasia, mucocele e colecistite em 66,6% dos pacientes avaliados é que o exame histopatológico foi considerado padrão ouro (VERONESSE & CORRENTE, 2007). Este exame permite que as alterações em VB comumente subdiagnosticadas sejam melhor elucidadas (CENTER, 2009).

6. CONCLUSÃO

No exame ultrassonográfico, as semelhanças dos achados de imagem encontrados nas diferentes afecções da VB não permitem o esclarecimento de um diagnóstico preciso. Neste estudo pode-se perceber que existe uma concordância substancial no diagnóstico de alterações observadas através dos exames ultrassonográficos e histopatológicos, quando relacionamos apenas o diagnóstico de alterado e não alterado. Entretanto, quando comparamos as alterações individuais de mucocele, HMC e colecistite, a concordância apresenta-se mais baixa. Com estes resultados, pode-se afirmar que o exame ultrassonográfico é uma ótima ferramenta para identificar a presença ou ausência de alterações relacionadas à VB, diferenciando, assim, um animal enfermo de um animal não enfermo. Deve-se considerar a hiperplasia mucinosa cística como diagnóstico diferencial para o espessamento da parede da vesícula biliar. Além disso, deve-se considerar a probabilidade do diagnóstico de colelitíase para estruturas ecogênicas, ainda que sem a formação do artefato de sombreamento acústico posterior.

Há um número limitado de estudos analisando a VB em cães. Contudo, mais estudos devem ser realizados a fim de se aprofundar o entendimento da correlação entre ultrassonografia e histopatologia para o direcionamento das conclusões diagnósticas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, V.A.; BACCHI, C.E VASSALO, J; MELO, E.S.. Marcadores de proliferação celular. In: C.E.; (ed.). **Manual de imuno-histoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1999, p. 182-194.
- ARIAS, D.; KLIMA, L.; RODRIGUEZ, R.; CRUZ, A.; BIGEON, G.; TORTORA, M.; VILLANUEVA, M.; STANCHI, N. Peritonitis biliar por coledoclitiasis con perforación de la vesícula biliar en un perro: presentación de un caso. **Analecta Veterinária**, La Plata, Argentina, v. 21, n. 1, p. 50-51, 2001.
- BALAMURALI, S.; RESHMA, S. Early gallbladder carcinoma with cholelithiasis: a rare case report. **International Surgery Journal**, College, Chennai, Tamil Nadu, India v. 4, n. 7, p. 2363-2366, 2017.
- BARBOSA, A.B.R.; DE SOUZA, L.R.M.F.; PEREIRA, R.S.; D'IPPOLITO, G. Espessamento parietal da vesícula biliar no exame ultrassonográfico: como interpretar. **Radiologia Brasileira**, São Paulo, v. 44, n. 6, p. 381-387, nov-dez/2011.
- BENNETT, S. L.; MILNE, M.; SLOCOMBE, R. F.; LANDON, B. P. et al. Gallbladder mucoceles and concurrent hepatic lipidosis in a cat. **Australian Veterinary Journal**, Melbourne v. 85, n. 10, p. 397-400, 2007.
- BERGMAN, J.R. Nodular hyperplasia in the liver of the dog: an association with changes in the Ito cell population. **Veterinary Pathology**, Londres, v. 22, n.5, p. 427-438, 1985.
- BESSO, J.G.; WRIGLEY, R.H.; GLIATTO, J.M.; WEBSTER, C.R.L. Ultrasonographic appearance and clinical findings in 14 dogs with gallbladder mucocele. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Colorado State, v. 41, n. 3, p. 261–271, maio/2005.
- BICALHO, A.; CARNEIRO, R. A.; DA HEMATOPOIESE, E. N.; RECOMENDADA, L. **Apostila de patologia clínica**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.
- BOULLHESEN-WILLIAMS, T.; TOWNSEND, K. L.; MILOVANCEV, M.; WHITE, N. C.; HARRIS, C. G.; ADIGA, P. In vitro effect of 20% N-acetylcysteine on the viscosity of normal canine bile. **American Journal of Veterinary Research**, Oregon, v. 80, n. 1, p. 74-78, 2019.
- BRÖMEL, C.; BARTHEZ, P.Y.; LÉVEILLÉ, R.; SCRIVANI, P.V. Prevalence of gallbladder sludge in dogs as assessed by ultrasonography. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Ohio, v. 39, n. 3, p. 206-210, 1998.
- CALLAHAN, CLARK JE et al. Feline cholangitis: a necropsy study of 44 cats (1986-2008). **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 13, n. 8, p. 570-576, agosto/2011.

CENTER, SHARON A. Diseases of the gallbladder and biliary tree. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, Ithaca, NY, USA. v. 39, n. 3, p. 543-598, 2009.

CHEBLI, J.M.F.; FERRARI, A.P.; SILVA, M.R.R.; BORGES, D.R.; ATALLAH, A.N.; NEVES, M.M.D. Microcristais biliares na pancreatite aguda idiopática: indício para etiologia biliar oculta subjacente. **Arquivos de gastroenterologia**, Juiz de Fora v. 37, n. 2, abr-jun/2000.

CHOI, J.; KIM, A.; KEH, S.; OH, J.; KIM, H.; YOON, J. Comparison between ultrasonographic and clinical findings in 43 dogs with gallbladder mucoceles. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Gwangju, v. 55, n. 2, p. 202-207, mar-abr/2014.

CLAESSON, B.; HOLMLUND, D.; MATZSCH, T. Biliary microflora in acute cholecystitis and the clinical implications. **Acta Chirurgica Scandinavica**, v. 150, n. 3, p. 229-237, 1984.

COSTA, F.; FERREIRA, M.; GUIMARÃES, S. Colecistite necrosante em um canino da raça scottish terrier: Relato de caso. **Investigação**, Belém, v. 17, n. 4, p.1 -5, 2018;

CULLEN., J.M.; STALKER M.J. **Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals**. Elsevier Health Sciences, vol. 2. 6.ed. St. Louis: Elsevier, 2016.

CULLEN, J.M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Bases da patologia veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009, cap. 8, p. 303-462, 2009.

CULLEN, J.; POOP, J. Tumors of the Liver and Gall Bladder. In: MEUTEN, M. J. **Tumors in domestic animals**. 4.ed. Ames: Iowa State Press, 2002, cap. 9, p. 496-521.

DEMONACO, S. M.; GRANT, D. C.; LARSON, M. M.; PANCIERA, D. L.; LEIB, M. S. Spontaneous course of biliary sludge over 12 months in dogs with ultrasonographically identified biliary sludge. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Virginia, v. 30, n. 3, p. 771-778, 2016.

ETMINAN, M.; DELANEY, J.A.C.; BRESSLER, B.; BROPHY, J.M. Oral contraceptives and the risk of gallbladder disease: a comparative safety study. **Canadian Medical Association Journal**, Canada, v. 183, n. 8, p. 899-904, 2011.

FEENEY, Daniel et al. Statistical relevance of ultrasonographic criteria in the assessment of diffuse liver disease in dogs and cats. **American Journal of Veterinary Research**, Minnesota, v. 69, n. 2, p. 212-221, 2008.

FUERST, J.A.; HOSTNIK, E.T. CT attenuation values and mineral distribution can be used to differentiate dogs with and without gallbladder mucoceles. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Ohio, v. 60, n. 6, p. 689-695, nov-dez/2019;

FURIAN, N.; COMPARSI, B. Aplicação diagnóstica dos principais parâmetros bioquímicos de interesse clínico. **Revista Saúde Integrada**, Santo Ângelo. Rio Grande do Sul. v. 12, n. 23, p. 204-235, 2019.

GAILLOT, H.; PENNINGCK, D.; WEBSTER, C.; CRAWFORD, S. Ultrasonographic features of extrahepatic biliary obstruction in 30 cats. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Paris, v.48, n.5, p. 439-447, 2007.

GOMES, C.; ANACLETO, T.; PRADO, L.; AKAMATSU, A.; SIQUEIRA, L.; MALAGÓ, R. Percutaneous transcholecystic cholangiography in dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro v. 38, n. 3, p. 522-527, 2018.

GOMEZ-PINILLA, P.J.; CAMELLO, P.J.; POZO, M.J. Effects of melatonin on gallbladder neuromuscular function in acute cholecystitis. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Cáceres, v. 323, n. 1, p. 138-146, 2007.

GUYTON, A.; HALL, J.; GUYTON, **Tratado de fisiologia médica**. 11 ed., Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2006.

HARVEY, A.M.; HOLT, P.E.; BARR, F.J. et al. Treatment and longterm follow-up of extrahepatic biliary obstruction with bilirubin cholelithiasis in a Somali cat with pyruvate kinase deficiency. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, Camaiori, v. 9, n. 5, p. 424-431, 2007.

HITTMAIR, K.; VIELGRADER, H.; LOUPAL, G. Ultrasonographic evaluation of gallbladder wall thickness in cats. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Viena, v. 42, n. 2, p. 149-155, 2001.

HOWES, Flávia. **Hepatopatias crônicas em cães**. Monografia (Especialização). Área de concentração: Clínica médica de pequenos animais, Unversidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 12 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KAHN, C.M.; LINE, S. (org). Sistema Digestório. In: <http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/2017v3.pg110-117.pdf> **Manual Merck de veterinária**. 10 ed. São Paulo: Roca, 2013, p. 151-522.

KEALY, J.; MCALLISTER, H.; GRAHAM, J. A vesicular biliar. In: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/563/2924> (ed.). **Radiografia e ultrassonografia do cão e do gato**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012, p. 49-50;

KILPATRICK, S.; UETSU, Y.; BELL, A. Treatment of gallbladder disease in dogs and cats. **Companion Animal**, v. 22, n. 9, p. 534-538, 2017.

KO, C.W.; SEKIJIMA, J.H.; LEE, S.P. Biliary sludge. **Annals of Internal Medicine**, Cánada, v. 130, n. 4, p. 301-311, 1999.

KÖNIG, H.E.; LIEBICH, H.G. **Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido**. vol.2. Porto Alegre: Artmed, 2004. 400p.

KUTSUNAI, M.; KANEMOTO, H.; FUKUSHIMA K. et al. Associação entre mucoceles da vesícula biliar e hiperlipidemia em cães: um estudo retrospectivo de controle de casos. **The Veterinary Journal**, Salvador, v. 199, n. , p. 76-79, 2014.

LALLEMAND, B.; DE KEULENEER, R.; MAASSARANI, F. Emphysematous cholecystitis. **Acta Chirurgica Belgica**, Belgica, v. 103, n. 2, p. 230-232, 2003.

LA MONT, J.T.; SMITH, B.F.; MOORE, J.R. Role of gallbladder mucin in pathophysiology of gallstones. **Hepatology**, Boston, v. 4, n. S2, p. 51-56, 1984.

LAWRENCE, Y.; RUAUX, C.; NEMANIC, S.; MILOVANCEV, M. Characterization, treatment, and outcome of bacterial cholecystitis and bactibilia in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Oregon, v. 246, n. 9, p. 982-989, 2015.

LEE, S. Lessons from experimental cholelithiasis: gallbladder and mucosa, nonsteroidal antiinflammatory drugs, and gallstones. **Gastroenterology**, Itália, v. 101, n. 3, p. 857-860, 1991.

LEE, Sungin et al. Presence and distribution of leptin and leptin receptor in the canine gallbladder. **Acta Histochemica**, Itália, v. 118, n. 7, p. 674-678, 2016.

LEE, S.; KWEON, O.K.; KIM, W. Associações entre níveis séricos de leptina, hiperlipidemia e coledoclitase em cães. **Plos One**, Itália, v. 12, n. 10, 2017.

LERCH, M.; AGHDASSI A. Gallstone-related pathogenesis of acute pancreatitis. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3998/panc.2016.24>>. Acesso em: 13 nov. 2019.

LOH, W. L.; NG, N. Z. P.; KABIR, T.; CHAN, C. Y. Rare case of gallbladder mucocele causing gastric outlet obstruction treated with cholecystectomy. **International Journal of Surgery Case Reports**, Singapura, v. 57, p. 84-87, 2019.

MAYHEW, P.D.; HOLT, D.E.; MCLEAR, R.C.; WASHABAU, R.J. Pathogenesis and outcome of extrahepatic biliary obstruction in cats. **Journal of Small Animal Practice**, v. 43, n. 6, p. 247-253, jun/2002.

MCGAVIN, M.; ZACHARY, J.F. **Pathologic basis of veterinary disease (vol.1)**, 4. ed., St. Louis: Elsevier, 2007.

NELSON, R.; COUTO, C. **Medicina interna de pequenos animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, cap. 36, p. 496-51.

NYLAND, T.; LARSON, M.; MATTOON, J. Liver. MATTOON, J.; NYLAND, T. (ed). **Small animal diagnostic ultrasound**. 3.ed., Saint Louis: Elsevier Saunders, 2015, cap. 9, p. 332-384.

ORO, K.; REDONDO, C.; PAYARES, M. Carcinoma de vesícula biliar en el "Hospital Universitario del Caribe". **Revista Ciencias Biomédicas**, Cartagena, v. 1, n. 1, p. 41-45, 2010.

ORTIZ, Robin Germán. Cáncer de vesícula biliar en una cohorte de pacientes sometidos a colecistectomía laparoscópica. **Revista Medicina**, Bogotá, v. 40, n. 4, p. 399-407, 2018.

PARKANZKY, M.; GRIMES, J.; SCHMIEDT, C.; SECREST, S.; BUGBEE, A. Long-term survival of dogs treated for gallbladder mucocele by cholecystectomy, medical management, or both. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Athens, v. 33, n. 5, 2019.

PAZZI, P.; GAMBERINI, S.; BULDRINI, P.; GULLINI, S. Biliary sludge: the sluggish gallbladder. **Digestive and Liver Disease**, Itália, v. 35, supl. 3, p. 39-45, 2003.

PELEGRINI, Lidianne. **Ultrassonografia abdominal no diagnóstico precoce das afecções de gatos domésticos assintomáticos**. 2015. 121p. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Cuiabá, Cuiabá, 2015.

PENNINCK, D.; D'ANJOU, M. Fígado. In: **Atlas de ultrassonografia de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, p. 257-258.

POPESKO, P. **Atlas de anatomia topográfica dos animais domésticos**. 5.ed. São Paulo: Manole, 2012, 608p.

PORTINCASA, P.; DI CIAULA, A.; WANG, H. et al. Coordinate regulation of gallbladder motor function in the gut-liver axis. **Hepatology**, Cândia, v. 47, n. 6, p. 2112-2126, 2008.

PROLO, T.; FAIX, P.N.; ULTCHAK, R.R.; BENINCÁ, S.C. Fatores nutricionais nas afecções biliares. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, Sorocaba, v. 19, n. 4, p. 167-168, 2017.

QUINN, R.; COOK, A.K. An update on gallbladder mucoceles in dogs. **Veterinary Medicine**, Curitiba, v. 103, n. 4, p. 169-175, 2009.

R CORE TEAM. 2019. R: "A language and environment for statistical computing". R Foundation for Statistical Computing, Viena. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 12 dez. 2019.

ROQUETE, M.L.; FERREIRA, A.R.; FAGUNDES, E.D.; CASTRO, L.P.; SILVA, R.A.; PENNA, F.J. Accuracy of echogenic periportal enlargement image in ultrasonographic exams and histopathology in differential diagnosis of biliary atresia. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 4, p. 331-336, 2008.

ROTHUIZEN, J.; TWEDT, D.C. Liver biopsy techniques. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, Reino Unido, v. 39, n. 3, p. 469-480, 2009.

SANTOS, IVAN F.C. **Ultrassonografia abdominal de cães e gatos hípidos, adultos e filhotes**. 2009. 157p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2009.

SAUCEDO, L.G.R.; MARTINS, W.P. Ultrassonografia endoscópica nos quadros de pancreatite. **Experts in Ultrasound: Reviews and Perspectives**, Porto Alegre, v. 1, n. 2, p. 113-124, 2009.

SECCHI, Priscila. **Prevalência, fatores de risco e marcadores bioquímicos em cães com lama biliar diagnosticada por ultrassonografia**. 2011. 50p. Dissertação (Mestrado). Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011.

SHAFFER, E.A. Gallstone disease: Epidemiology of gallbladder stone disease. **Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology**, Canadá, v. 20, n. 6, p. 981-996, 2006.

SILVA, R.S.; PAES, A.T. Por dentro da estatística: Teste de concordância Kappa. **Educação Continuada em Saúde Einstein**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 165-166, 2012.

SPAULDING, Kathy. Espessura da parede da vesícula biliar de ultrassom. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Carolina do Norte, v. 34, n. 4, p. 270-272, 1993.

STINTON, L.M.; SHAFFER, E.A. Epidemiology of gallbladder disease: cholelithiasis and cancer. **Gut and Liver**, Calgary, v. 6, n. 2, p. 172-87, 2012.

SWARTZ-BASILE, D.A.; LU, D.; BASILE, D.P.; GRAEWIN, S.J.; AL-AZZAWI, H.; KIELY, J.M. et al. A leptina regula os genes da vesícula biliar relacionados à absorção e secreção. **American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology**, Tennessee, v.293, n.3 p.519. 2007.

TOBIAS, K.M.; JOHNSTON, S.M. **Veterinary Surgery: Small Animal**. 2 vol. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013.

TORRES, O. J. M.; DE ALCÂNTARA, L. R.; DE AZEVEDO, R. P.; PALÁCIO, R. L.; DOS SANTOS RODRIGUES, M. L.; LOPES, J. A. C. Colelitíase e câncer de vesícula biliar. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, São Paulo. 29, n. 2, p. 88-91, 2018.

UETSU, Y.; KILPATRICK, S.; BELL, A. Diagnostic approach to gallbladder disease in dogs and cats. **Companion Animal**, Londres, 22(5), 254-260, 2017, v. 130, n. 4, p. 301-311, 1999.

VAN GEFFEN, C.; SAVARY-BATAILLE, K.; CHIERS, K. et al. Bilirubin cholelithiasis and haemosiderosis in an anaemic pyruvate kinase-deficient Somali cat. **Journal of Small Animal Practice**, United Kingdon, v. 49, n. 9, p. 479–482, 2008.

WANG, H.; CHOW, S. Sample size calculation for comparing proportions. In: **Wiley Encyclopedia of Clinical Trials**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2007.

WILLARD M.D. & FOSSUM T.W. Diseases of the Gallbladder and Extrahepatic Biliary System, p. 1478-1482. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), **Textbook of Veterinary Inter-nal Medicine**, 6th ed., Elsevier, St. Louis, 2005.

WOODS, K.; BRISSON, B.; DEFARGES, A.; OBLAKML. Congenital duplex gallbladder and biliary mucocele associated with partial hepatic cholestasis and cholelithiasis in a cat. **The Canadian veterinary journal**, Canadian, v. 53, n.3 p. 269-273, 2012.

YOUN, G.; WASCHAK, M.J.; KUNKEL, K.A.; GERARD, P.D. Result of elective cholecystectomy in the treatment of gallbladder disease in dogs. **Journal of the American veterinary medical association**, South Carolina, v. 252, n.8, p. 970-5, 2018.

YILDIZ, T.; ILCE, Z.; TURAN, G.; YUCAK, A.; ELMAS, B.; ALAN, C. Place of cholecystectomy in children with uncomplicated gallstones. **Iranian journal of pediatrics**, Iran, v. 29, n. 2, 2019.

ZEMAN, R.K.; TAYLOR, K.J.; ROSENFELD, A.T. et al. Acute experimental biliary obstruction in the dog: sonographic findings and clinical implications. **American journal of Roentgenology**, Canada v. 136, n. 5, p. 965-967, 1981.

ANEXO A – Laudo do Laboratório de Análises Clínicas Hermes Pardini

End.: Av. Das Nações, 2448 - Portaria A CNPJ: 19.378.789/0001-08
 Vespasiano-MG CEP: 35200-000 CRM-MG: 8666-18
 RT - Divisão Veterinária - Dr. Old Balthaz F. Kacelo - CRMV-MG: 9520
 Telefone Geral/Atend.Domiciliar: (31) 3228-6200 CNES: 4706888

Nome **FLOR PROPRIETARIA RAFAELA DA SILVEIRA PRESTES** Data de Nascimento **02/04/2012 (7 anos)**
 Solicitante _____ Data Entrada **02/10/2019** Pedido **3025302-OUP**

MATERIAL - CALCULO DA VESICULA BILIARR

CALCULO BILIAR, ANALISE FISICO/QUIMICA - VETERINARIO

[DATA DA COLETA : 07/10/2019 12:31] COLETA DE AMOSTRA NAO REALIZADA PELO INSTITUTO HERMES PARDINI
 MÉTODO: ANÁLISE FÍSICA : MACROSCOPIA
 ANÁLISE QUÍMICA: COLORIMÉTRICO

ANÁLISE FÍSICA

CONSISTÊNCIA: MACIA
 COR : ESVERDEADA
 FORMA : AMORFA
 PESO : 0,03 GRAMAS

ANÁLISE QUÍMICA

BILIRRUBINA : PRESENTE
 BILIVERDINA : AUSENTE
 CÁLCIO : AUSENTE
 COLESTEROL : AUSENTE
 FERRO : PRESENTE
 FOSFATO AMORFO: AUSENTE
 FOSFATO TRIPLO: AUSENTE

CONCLUSÃO: PRESENÇA DE BILIRRUBINA (+) E FERRO(++).

NOTA:

- Para esse exame não dispomos de intervalo de referência, ficando a critério clínico a interpretação.