

APLICAÇÃO DA CITOLOGIA NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS INFECCIOSAS NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS: REVISÃO DE LITERATURA.

*(Cytology application in the diagnosis of infectious diseases in domestic animals:
Review)*

Jefferson da Silva Ferreira¹

¹Programa de Residência Multiprofissional da Saúde em Medicina Veterinária na área de Patologia Animal, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB.

RESUMO

A citologia diagnóstica consiste na extração de células provenientes de tecidos lesionados com o objetivo de determinar a natureza do processo patológico envolvido. De maneira mais rotineira, essa técnica é utilizada no diagnóstico oncológico, tanto na medicina humana quanto na veterinária, entretanto, é possível ampliar as fronteiras diagnósticas nas doenças infecciosas em animais domésticos, tendo em vista um conhecimento prévio dos aspectos clínicos e patológicos das doenças, bem como as características morfológicas dos agentes. Para o sucesso no diagnóstico, se faz necessário o conhecimento das técnicas básicas de coleta das amostras biológicas a serem analisadas, destacando a punção aspirativa por agulha fina (PAAF), *imprint* e *swab*. Os principais agentes detectáveis no exame citológico são os bacterianos, embora seja uma minoria passível de ser identificada por esta técnica; os fúngicos, especialmente os leveduriformes e por fim os protozoários. As informações precoces obtidas pela citologia são valiosas a ponto de evitar procedimentos cirúrgicos desnecessários quando as lesões se assemelham com neoplasias. Embora o exame citopatológico seja eficaz no diagnóstico de muitas doenças infecciosas, esta técnica não deve substituir outros métodos de diagnóstico, como histopatologia, microbiologia e imunohistoquímica.

Palavras-chave: citologia; doenças infecciosas; animais domésticos.

ABSTRACT

The diagnostic cytology is extraction of cells from the injured tissue in order to determine the nature of the pathological process involved. More routinely, this technique is used in

cancer diagnosis, both in human medicine and in veterinary, however, you can extend the diagnostic boundaries in infectious diseases in domestic animals, in view of prior knowledge of the clinical and pathological aspects of the diseases, morphotinctorial well as the characteristics of the agents. For success in the diagnosis, it is necessary to know the basic techniques of collection of biological samples to be analyzed, highlighting the fine-needle aspiration (FNA), imprint and swab. The main agents detectable in cytological examination are bacterial, although it is a minority that can be identified by this technique; fungal, especially yeast and protozoa order. Early information obtained by cytology are valuable enough to avoid unnecessary surgical procedures when the lesions resemble neoplasms. Although the Pap test is effective in the diagnosis of many infectious diseases, this technique should not replace other diagnostic methods such as histopathology, microbiology and immunohistochemistry.

Keywords: cytology; infectious diseases; domestic animals.

INTRODUÇÃO

A citologia, quando aplicada aos conhecimentos de anatomia patológica, consiste na extração de células de tecidos lesionados a fim de determinar a origem do processo patológico. Rotineiramente essa técnica diagnóstica é empregada com maior frequência no auxílio diagnóstico de processos neoplásicos, tanto na medicina humana quanto no meio veterinário, entretanto, nas doenças infecciosas essa técnica demonstra-se eficaz (Powers, 1998), pois permite uma visualização direta do agente causador do processo patológico, de maneira minimamente invasiva na obtenção da amostra biológica a ser analisada, com baixo custo e de maneira precoce, sendo este último um fator importante em pacientes que apresentam doenças fúngicas e bacterianas que podem se assemelhar a tumores, evitando cirurgias oncológicas desnecessárias (Powers, 1998).

As informações clínicas e patológicas das doenças infecciosas, bem como os aspectos morfológicos e tinteoriais dos seus respectivos agentes são peças fundamentais para se estabelecer um diagnóstico definitivo, desta forma, objetiva-se nesta revisão descrever a aplicabilidade da citologia como ferramenta auxiliar no diagnóstico de doenças infecciosas nos animais domésticos, associando com seus aspectos clínicos e patológicos, além de ressaltar pontos importantes referentes aos métodos de coletas e colorações especiais.

DESENVOLVIMENTO

O material a ser analisado para citologia pode ser obtido de qualquer tecido, entretanto, se faz necessário o conhecimento e domínio das técnicas de coleta de material biológico. Dentre essas técnicas podemos destacar a punção aspirativa por agulha fina (PAAF), *imprint* e *swab*.

A PAAF é a técnica de coleta mais utilizada em citologia. Tal como o nome indica, o procedimento é caracterizado pela utilização de uma agulha fina para extrair células de um tecido. É indicada para todos os tipos de lesões cutâneas, desde massas sólidas a abscessos, órgãos linfoides como linfonodos, baço, medula óssea, dentre outros órgãos internos e efusões cavitárias (Peleteiro et al., 2011). Dentro da técnica citada, pode considerar duas variantes, a utilização ou não da aspiração, sendo então conhecidas como punção aspirativa por agulha fina (PAAF) e punção por agulha fina (PAF), respectivamente (Peleteiro et al., 2011).

A técnica de *imprint* consiste na obtenção de células superficiais através da aposição de uma lâmina na superfície de uma lesão com solução de continuidade ou em superfície de corte de material oriundo de procedimento cirúrgico ou necroscópico. Tem como vantagem uma boa preservação da morfologia celular e rápida avaliação da presença de bactérias e fungos (Peleteiro et al., 2011).

Como limitações do *imprint*, a população celular obtida, no geral, é escassa, não sendo indicada em algumas neoplasias de origem mesenquimal, por serem pouco esfoliativas. Há uma grande chance de haver contaminação por bactérias secundárias às lesões em tumores ulcerados, além da obtenção de células inflamatórias e displásicas, que não refletem a lesão principal subjacente (Peleteiro et al., 2011).

A técnica do *swab* é considerada como método de coleta mais delicado, pois causa uma leve escarificação na área lesionada. Geralmente é usado quando os outros métodos de coleta não são viáveis, sendo esta técnica indicada em lesões com bordos elevados; trajetos fistulosos; região auricular, principalmente para a identificação de agentes infecciosos como fungos e bactérias; mucosas (citologias vaginais e oculares) e locais de difícil acesso como em áreas interdigitais (Peleteiro et al., 2011).

Uma vez obtida as amostras biológicas e devidamente dispostas em lâminas, o material precisa ser fixado e corado.

No que se diz respeito aos patógenos bacterianos, na maioria das vezes, somente pelo exame citológico não é possível determinar seus gêneros, restringindo ao citologista apenas a morfologia e sua afinidade tintorial pela técnica de Gram (Powers, 1998), porém há algumas bactérias de importância médica e veterinária que é possível chegar a sua identificação, por meio de seus aspectos morfotintoriais, características inflamatórias e juntamente com dados clínicos. Segue adiante alguns exemplos:

Mycobacterium spp: A ocorrência de doenças por bactérias deste gênero em pequenos animais seja na forma de micobacterioses cutâneas ou na doença sistêmica no caso da tuberculose é considerada rara. Seja qual for o caso, o *Mycobacterium* spp se apresenta nos esfregaços citológicos, através dos corantes do tipo Romanowsky, como imagens negativas e alongadas predominantemente no interior de macrófagos ou células gigantes. A confirmação da presença da infecção por bactérias deste gênero é exigida a utilização de coloração especial Ziehl-Neelsen (Peleteiro et al., 2011).

Actinomyces spp e *Nocardia* spp: De maneira geral, a infecção em cães e gatos apresenta-se na pele com edema subcutâneo que evolui para ulceração e exsudação de líquido vermelho amarronzado. Nos casos mais graves, quando há envolvimento sistêmico, observa-se com frequência a presença de piotórax. Nas amostras citológicas, há um predomínio de neutrófilos degenerados associados a macrófagos e linfócitos, sendo possível visualizar bactérias delgadas, filamentosas, ramificadas, podendo por vezes apresentar fraca basofilia com áreas pontilhadas vermelhas. Quando agrupadas, formam um arranjo semelhante a um rosário (Raskin & Meyer, 2012). A distinção entre os dois agentes pode ser feita pela coloração de Ziehl Neelsen modificado. A *Nocardia* spp apresenta afinidade tintorial parcial, enquanto o *Actinomyces* spp não cora por meio desta técnica (Sykes, 2012).

Dermatophilus congolensis: Este agente é responsável por uma infecção cutânea caracterizada por massas firmes, aloécicas e crostosas, que se destacam facilmente (Ferreira et al., 2014). Essa infecção ocorre como resultado de lesões penetrantes contaminadas com água ou solo infectado. Os organismos apresentam-se como filamentos ramificados Gram positivos que segmentam-se horizontalmente e longitudinalmente em formas cocoides (Raskin & Meyer, 2012).

Os agentes micóticos formam lesões de caráter inflamatório constituído por um maior predomínio de macrófagos do que a maioria dos processos que envolvem agentes

bacterianos, entretanto, neutrófilos ainda podem ser as células predominantes, assim como em algumas lesões causadas por fungos formadores de hifas, pode haver acentuada quantidade de eosinófilos (Cowel et al., 2009). As lesões micóticas de importância veterinária dificilmente apresentam acentuada quantidade de linfócitos, plasmócitos e fibroblastos. Os fungos leveduriformes apresentam muitas vezes características morfológicas marcantes, permitindo ao patologista identificá-los sem muita dificuldade.

Sporotrix schenckii: A visualização do fungo nos esfregaços pode ser feita através da utilização de colorações convencionais como as do tipo Romanowsky, gram ou novo azul de metileno. Para todos os casos, as leveduras apresentam-se ovaladas, arredondadas ou em forma de charuto, vistas tanto ao fundo de lâmina quanto fagocitadas por macrófagos. A parede celular é retrátil, assim como o citoplasma, dando a impressão de haver uma cápsula, podendo confundir com leveduras de *Cryptococcus neoformans* (Cruz, 2010).

Cryptococcus neoformans: As infecções por este agente podem ocorrer na pele, trato respiratório e sistema nervoso central. A resposta inflamatória geralmente é de origem granulomatosa. As leveduras apresentam um grande pleomorfismo, variando de esféricas a fusiformes, mas o reconhecimento se torna facilitado por sua cápsula mucoide (Cowel et al., 2009).

Histoplasma capsulatum: A infecção por este agente ocorre com maior frequência pulmões e outros órgãos internos, entretanto, é possível haver acometimento cutâneo sem envolvimento sistêmico. O infiltrado inflamatório é constituído predominantemente por macrófagos que fagocitam as leveduras. Nas amostras citológicas coradas por corantes do tipo Romanowsky, os organismos apresentam-se redondos ou levemente ovais, mas não fusiformes como o *Sporotrix schenckii*. As leveduras são fracamente basofílicas, com núcleo excêntrico, variando de rosado a roxo, frequentemente com formato crescente. Geralmente, observa-se um halo claro ao redor da levedura (Cowel et al., 2009).

Candida spp: A candidíase é tida como uma doença primária do trato digestório de aves, sendo caracterizada pela deposição de uma pseudomembrana esbranquiçada, localizadas principalmente no papo e proventrículo. A forma sistêmica ocorre em condições de imunossupressão. Nos mamíferos, os sistemas acometidos são o urogenital, gastrointestinal, além de fígado, coração, meninges, pele e cavidade peritoneal. Microscopicamente, visualiza-se células globosas com ou sem brotamento, hifas e

pseudohifas. Quanto maior for a grau de envolvimento com o processo patológico, maior será a predominância da forma micelial sobre a leveduriforme (Cruz, 2010).

Pythium insidiosum: Este agente é responsável pela pitiose, doença caracterizada por formar lesões ulcerativas bastante exsudativas, principalmente no sistema tegumentar de equinos. Apesar de não ser um fungo verdadeiro, e sim um oomiceto, o diagnóstico desta doença consiste basicamente na associação dos dados epidemiológicos, lesões macroscópicas e histopatologia, porém o exame citológico de material necrótico intralesional após clarificação com hidróxido de potássio 10% pode ser 100% eficaz (Rodrigues & Luvizotto, 2000).

Os protozoários de importância veterinária são facilmente identificáveis no exame citológico, sendo necessário o conhecimento das doenças que os mesmo causam, de modo que sejam coletadas amostras biológicas provenientes de tecidos que possam haver o agente. Serão citados apenas dois de maior importância diagnóstica:

Babesia spp: Esse agente é um hemoparasita responsável por causar doença hemolítica em mamíferos, podendo levar a um quadro de febre e icterícia. A busca parasitológica para diagnóstico de babesiose pode ser obtida em esfregaços sanguíneos por venopunção, imprints de baço ou linfonodos, entretanto, ou sangue proveniente de sítios anatômicos de microcirculação capilar (Cowell et al., 2009). É importante destacar que o sucesso na detecção do agente irá depender também do curso clínico de doença. Nas infecções agudas, há uma maior probabilidade no diagnóstico citológico em relação aos casos crônicos, visto que há uma maior parasitemia (Cowell et al., 2009).

Leishmania spp: Responsável por acometer o sistema fagocitário mononuclear, este agente caracteriza-se por causar lesões inflamatórias constituídas de neutrófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos. Os organismos infectantes, nas colorações tipo Romanowsky, são ovalados, núcleo de mesmo formato e arroxeados, e cinetoplasto roxo escuro, em forma de bastão, caracterizando a forma amastigota. Nas amostras citológicas, podem ser visualizados o agente de forma livre ou no interior de macrófagos (Cowell et al., 2009).

CONCLUSÃO

A citologia diagnóstica nos animais domésticos é uma importante ferramenta auxiliar na rotina clínica veterinária. As informações precoces obtidas por esta técnica são valiosas a

ponto de evitar procedimentos cirúrgicos desnecessários, nos casos em que as lesões se assemelham a neoplasias. Embora o exame citopatológico seja eficaz no diagnóstico de muitas doenças infecciosas, esta técnica não deve substituir outros métodos de diagnóstico, como histopatologia, microbiologia e imunohistoquímica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COWELL, E. L.; TYLER, R. D.; DeNicola, D. Principais Agentes Infecciosos. In: COWELL, E. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. H.; DENICOLA, D. Diagnóstico Citológico e Hematologia de Cães e Gatos. 3 ed. São Paulo: MedVet, 2009. p. 52-62.
- CRUZ, L. C. H. Micologia Veterinária. 2 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2010. 348p.
- FERREIRA, J. S.; OLINDA, R. G.; MARTINS, F. S. M.; ALMEIDA, T. M.; PIMENTEL, S. P.; DANTAS, A. F. M. Diagnóstico Citológico de Doenças Infecciosas nos Animais Domésticos, Patos, PB, 2013/14. In: II Semana Acadêmica de Medicina Veterinária. Anais Samev 2014. Animais de Grande Porte.
- PELETEIRO, M.C.; MARCOS, R.; SANTOS, M.; CORREIA, J.; PISSARRA, H.; CARVALHO, T. Atlas de Citologia Veterinária. 1 ed. Lisboa: Lidel, 2011. 308p.
- POWERS, C. N. Diagnosis of Infectious Diseases: A Cytopathologist's Perspective. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 11, n.2, p.341-365, 1998.
- RASKIN, R. E. Pele e Tecido Cutâneo. In: RASKIN, R. E. & MEYER, D. J. Citologia Clínica de Cães e Gatos. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. p. 33-35.
- RODRIGUES, C. A.; LUVIZOTTO, M. C. R. Zigomicose e Pitiose Cutânea em Equinos: Diagnóstico e Tratamento. *Revista de Educação Continuada do CRMV-SP*, v.3, p.3-11, 2000.
- SYKES, J. E. Actinomycosis and Nocardiosis. In: GREENE, C. E. Infectious Diseases of the Dog and Cat. 4 ed. United States of America: Elsevier, 2012. p. 489-490.