



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE EM  
MEDICINA VETERINÁRIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA**

**POLIANA NUNES DA SILVA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA  
SAÚDE EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**Principais inclusões leucocitárias de cães e gatos-Revisão de literatura**

**RECIFE - PE**

**2022**

**POLIANA NUNES DA SILVA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA  
SAÚDE EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**Principais inclusões leucocitárias de cães e atos-Revisão de literatura**

Monografia apresentada ao Programa de Residência em Área Profissional da Saúde em Medicina Veterinária, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências para conclusão da especialização *Lato Sensu* em Patologia Clínica Veterinária.

**Tutor:** Msc. Janaina Azevedo Guimarães

**Preceptora:** Prof. Dra. Miriam Nogueira Teixeira

**RECIFE – PE**

**2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S586p

Silva, Poliana Nunes da

Principais inclusões leucocitárias de cães e gatos: Revisão de literatura / Poliana Nunes da Silva . -  
2022.

62 f. : il.

Orientadora: Janaina Azevedo .

Coorientadora: Miriam Nogueira Teixeira.

Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Residência) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife,  
2022.

1. Mórula . 2. Agentes infecciosos . 3. Intracelulares . 4. Intraleucocitários. I. , Janaina Azevedo, orient.  
II. Teixeira, Miriam Nogueira, coorient. III. Título

CDD

---

**POLIANA NUNES DA SILVA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA  
SAÚDE EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Janaina Azevedo Guimarães  
Presidente da Banca

---

Miriam Nogueira Teixeira  
Membro Titular

---

Talles Monte de Almeida  
Membro Titular

---

Membro Suplente

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente sou grata a Deus por ter me agraciado com a benção de ter passado nessa residência e pelas pessoas que ele botou no meu caminho através dela. O exemplo maior deles é minha “R parça”, Samara de Castro Loura, que foi minha companheira de laboratório e da vida por esses dois anos e se tornou minha amiga, minha irmã. Outra pessoa maravilhosa, a qual tenho muito a agradecer é minha orientadora, Janaína Guimarães a qual tenho profunda admiração como profissional e sobretudo pessoa. Também gostaria de agradecer verdadeiramente a professora Miriam Teixeira pela paciência, os papos bons e todo o conhecimento passado.

Agradeço também a minha família, principalmente mãe e irmãos pelo apoio durante esse período e por tudo. Gratidão a meu amor, Ronaldo Oliveira, por me proporcionar mais leveza e felicidade nos momentos de agonia, pela força e por não deixar que eu desistisse em nenhum momento. Meus amigos, Jayr de Moraes, Airton Rodrigues, Daria Carla, que me ajudaram participar do processo seletivo, e que me deram forças para continuar quando não tinha mais esperança. Ainda incluído nesse quesito gostaria de agradecer a meus colegas de profissão Débora Sobral e Samuel Souza que me ajudaram indiretamente.

Gostaria de agradecer também a minha amiga e R1, Caroline Ribeiro por toda paciência, conhecimento e risadas trocadas durante o pouco tempo que passamos juntas. Os demais amigos/colegas de residência que me receberam sempre bem nessa cidade.

Muita gratidão também aos servidores da UFRPE, pela gentileza e carinho recebido por todos, especialmente, o pessoal da limpeza. Um agradecimento especial ao professor Aderaldo, pelo cuidado e gentileza que sempre me tratou durante a residência. Gratidão enorme ao pessoal da vigilância sanitária de Garanhuns, por terem me tratado tão bem e pelo vínculo de amizade criado, especialmente, Karol, Taciana, Paulo e seu Anchieta.

Por último e não menos importante, um agradecimento especial ao meu colega de profissão e minha grande inspiração profissional, Talles Monte, pela força e encorajamento para entrar nessa área maravilhosa, obrigada por ter me ajudado, sem você não seria possível.

Gratidão a Todos!

## RESUMO

O presente trabalho contempla dois capítulos. O primeiro discrimina as atividades realizadas dentro do Programa de Residência em área Profissional de Saúde em Medicina Veterinária com área de concentração em Patologia Clínica Veterinária realizado no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco (HOVET-UFRPE), no período de março de 2020 a fevereiro de 2022. Foi efetivado um levantamento de todas as atividades desenvolvidas no período, bem como, das realizadas no âmbito da Saúde pública e do Sistema Único de Saúde (SUS). O segundo capítulo refere-se a uma revisão de literatura sobre as principais inclusões leucocitárias de cães e gatos.

**Palavras-chave:** mórula, agentes infecciosos, intracelulares, intraleucocitários

## **ABSTRACT**

The present work includes two chapters. The first item discriminates against the activities carried out within the Residency Program in the Health Professional Area in Veterinary Medicine with an area of concentration in Patology Clinical Veterinary, held at the Veterinary University Hospital of the Federal Rural University of Pernambuco (HOVET-UFRPE), in March 2020 to February 2022. A survey of all activities carried out in the period was carried out, as well as those carried out within the scope of public health and the Unified Health System (SUS). The second chapter refers to a literature review on main leukocyteal inclusions in dogs and cats.

**Keywords:** morula, infectious agents, intracellular, intraleukocyte

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco UFRPE.....	12
Figura 2	Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LPCV) da UFRPE no ano de 2021..... ...	13
Figura 3	Equipe de Vigilância Sanitária atuante no município de Garanhuns-Pe no ano de 2020.....	20
Figura 4	A-Residente devidamente equipada para ação de enfrentamento ao COVID-19.B-Ação da vigilância Sanitária de Garanhuns frente a pandemia de COVID-19, vigilância dos enterros das vítimas da doença.....	20
Figura 5	Ação de fiscalização/inspeção para liberação de licença Sanitária no município de Garanhuns-Pe.....	21
Figura 6	A neutrófilos segmentados de um cão em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (objetiva de 100X). B- Neutrófilo segmentado de um gato em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (objetiva de 100 X).....	27
Figura 7	Neutrófilo de uma fêmea felina contendo um corpúsculo de Barr, em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido, sob objetiva de 100X.....	27
Figura 8	A- Basófilo de um felino em um esfregaço sanguíneo, coloração de Wright, ampliação de 250X. B- Basófilo de um canino em um esfregaço sanguíneo, coloração de Wright, ampliação de 250X.....	28
Figura 9	A- eosinófilo de um felino contendo grânulos finos, em um esfregaço de sangue periférico corado com panotico rápido, objetiva de 100x. B- Eosinófilo de um felino com garânulos mais densos corados com wright, ampliação de 250X. C- Eosinófilo de um canino em um esfregaço corado com panótico rápido, objetiva de 100X. D- Eosinófilo de um canino em um esfregaço corado com Wright, 330X.....	29
Figura 10	A-Monócito de um canino em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido e sob objetiva de 100X. B- Monócito de um felino em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido e sob objetiva de 100X.....	30
Figura 11	A-Linfócito de um cão em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido sob objetiva de 100X. B- Linfócito de um felino em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido, objetiva de 100X.....	31
Figura 12	Etapas de um esfregaço sanguíneo. A-Deposição da gota de sangue na lâmina; B – arrastando a lâmina extensora na frente da gota até o seu encontro; C- encontro da gota com a extensora; D- movimento de espalhar o sangue sobre a lâmina.....	33
Figura 13	Demonstração da morfologia do esfregaço e suas partes.	34
Figura 14	A e B Neutrófilos bastonetes apresentando granulação tóxica e corpúsculos de Döhle no interior do seu citoplasma em esfregaço de sangue periférico de um gato.....	38



Figura 15	<b>A-</b> Linfócito contendo granulações citoplasmáticas em esfregaço sanguíneo de cão, corado com panótico rápido sob objetiva de 100 X. <b>B -</b> Linfócito granular de um felino com linfoma granular, corado com Wright e sob ampliação de 1000X.....	39
Figura 16	Célula de Mott em esfregaço sanguíneo de cão, corado com panótico rápido, sob objetiva de 100X.....	39
Figura 17	<b>A.</b> Inclusão de Lentz em neutrófilo de cão positivo para cinomose. Objetiva de 100X, panótico rápido. <b>B-</b> Inclusão de Lentz em monócito de cão positivo para cinomose. Objetiva de 100X, panótico rápido.....	41
Figura 18	Inclusão de Lentz em linfócito de cão positivo para cinomose. Linfócito apresentando inclusão intracitoplasmática de coloração róseo-avermelhada. Objetiva de 100X. Panótico Rápido.....	42
Figura 19	<b>A-</b> Presença de mórula sugestiva de <i>Ehrlichia</i> spp em neutrófilo de um esfregaço sanguíneo de um gato, corado com panótico rápido, objetiva de 100x. <b>B-</b> Presença de mórula em neutrófilo em um esfregaço sanguíneo de cão com suspeita de <i>Ehrlichia</i> spp, corado com panótico rápido, objetiva de 100x.....	44
Figura 20	.... Esfregaço sanguíneo de cão com leucocitose e parasitemia elevada por <i>H. canis</i> , corados por Giemsa. Quase 100% dos neutrófilos parasitados pelos gamontes (1.000x).....	47
Figura 21	<b>A-</b> Gamontes de <i>H. americanum</i> em neutrófilos circulantes corados com Giemsa (1.200x). <b>B-</b> Presença de gamontes de <i>Hepatozoon</i> spp em leucócito de cão, em esfregaço sanguíneo corado em panótico rápido, objetiva de 100X.....	48
Figura 22	Presença de mórula de <i>A. phagocytophilum</i> em neutrófilo de canino em esfregaço sanguíneo corado com Wright, objetiva de 100x.....	50
Figura 23	<b>A-</b> Neutrófilo bastonete contendo forma amastigota de <i>Leishmania</i> spp, em esfregaço sanguíneo de cão corado em panótico rápido sob objetiva de 100X. <b>B-</b> Monócito contendo forma amastigota de <i>Leishmania</i> spp em esfregaço sanguíneo de cão, corado em panótico rápido e sob objetiva de 100X.....	53
Figura 24	.... Presença de inclusão em neutrófilo sugestiva de cocos bacterianos em esfregaço sanguíneo de felino com suspeita de sepse, corado com panótico rápido e sob objetiva de 100X.....	54
Figura 25	<i>Histoplasma capsulatum</i> em monócito de sangue circulante corados com Wright sob objetiva de 1000X.....	55

## Sumário

<i>CAPÍTULO I – RELATÓRIO DESCRITIVO DAS ATIVIDADES</i> .....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. DEPARTAMENTOS.....	12
2.1. Hospital Veterinário – UFRPE .....	12
3. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES.....	14
3.1. Atividades Práticas .....	14
3.1.1. Quantidade de exames realizados.....	17
3.2. Atividades Teóricas .....	18
3.3. Vivência em Saúde Pública .....	18
4. CONCLUSÃO .....	21
<i>CAPÍTULO II – REVISÃO DE LITERATURA</i> .....	22
INCLUSÕES INTRALEUCOCITÁRIAS .....	22
1. INTRODUÇÃO.....	22
2. INTRODUÇÃO AOS LEUCÓCITOS.....	23
3. GRANULOCITÓPOESE .....	25
4. MONOCITÓPOESE.....	29
5. LINFOPOESE.....	30
6. TÉCNICA DE EXTENSÃO SANGUÍNEA.....	31
7. INCLUSÕES INTRALEUCOCITÁRIAS.....	35
7.1. Inclusões diversas.....	35
7.2. Inclusões por microrganismos .....	39
7.2.1. Inclusão de Lentz.....	39
7.2.2. Mórula de <i>Ehrlichia spp.</i> .....	42
7.2.3. Gamonte de Hepatozoon.....	45
7.2.4. Mórula de <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	48
7.2.5. Amastigota de <i>Leishmania spp.</i> .....	51
8. OUTROS ACHADOS.....	53
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
REFERÊNCIAS.....	56

## ***CAPÍTULO I – RELATÓRIO DESCRITIVO DAS ATIVIDADES***

## 1. INTRODUÇÃO

O Programa de Residência em Área Profissional da Saúde, é definido como uma modalidade de ensino de pós-graduação *lato sensu*, que foi instituído pela Comissão Nacional de Residência Multiprofissional em Saúde, do Ministério da Educação, sob a Lei nº 11.129 de 2005. É um programa voltado para a educação em serviço e destinada às categorias profissionais que integram a área de saúde, nela incluído a Medicina Veterinária.

O programa tem duração total de 2 anos com um total de 5.760 horas, sendo estas divididas em 1.152 horas (20%) destinadas a atividades teóricas e teórico-práticas e 4.608 horas (80%) destinadas a atividades práticas. O programa é desenvolvido em regime de dedicação exclusiva, sendo realizada sob supervisão docente-assistencial, tendo responsabilidade conjunta dos setores da educação e da saúde. As atividades desenvolvidas englobam aquelas relacionadas à área específica do programa e também às atividades em saúde pública nos departamentos de vigilância em saúde e do Núcleo de Apoio à Saúde da Família (NASF).

Na UFRPE-SEDE são oferecidas um total de 18 vagas de residência que são distribuídas por onze áreas de concentração que são compostas por: Clínica Médica de Pequenos Animais; Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais; Anestesiologia Veterinária; Clínica Médica, Cirúrgica e da Reprodução de Grandes Animais; Diagnóstico por Imagem; Patologia Clínica Veterinária; Patologia Veterinária; Medicina Veterinária Preventiva - Saúde Pública; Medicina Veterinária Preventiva - Víroses; Medicina Veterinária Preventiva - Doenças Parasitárias; Medicina Veterinária Preventiva - Bacterioses.

Estruturalmente o Hospital Veterinário (HOVET) da UFRPE (figura 1), abrange 2 grandes áreas, são elas: A Clínica de grandes animais e a clínica de pequenos animais, onde, no âmbito de pequenos animais, são disponibilizadas as consultas. Estas são agendadas previamente via telefone. Inicialmente os pacientes são atendidos, por um clínico geral e quando necessário são redirecionados aos setores específicos presentes no hospital para continuação do atendimento. Como exemplo temos a cirurgia, dermatologia, oncologia, ortopedia, neurologia e oftalmologia.

Quanto à estrutura física, o HOVET é subdividido em seis setores: Diagnóstico por imagem, que possui sala de exames radiográficos e sala de exames de ultrassonografia, ecocardiográfico e eletrocardiográfico; setor de Patologia clínica; setor de Patologia animal, que conta com sala de necropsia e um laboratório; Clínica de pequenos, que conta com 8 ambulatórios, sala de fluidoterapia e de enfermagem; setor de clínica e cirurgia de grandes animais, que possui um consultório e baias para tratamento/internamento dos pacientes; setor de cirurgia, que conta com bloco cirúrgico, duas salas de cirurgia destinadas as aulas de graduação e pós graduação e uma sala de cirurgia de grandes animais; e, por fim, os setores de doenças infecciosas, quem têm seus respectivos laboratórios e doenças parasitárias que possui um laboratório e um ambulatório para coleta e atendimento dos pacientes.



**Figura 1:** Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Fonte: Google maps, 2022.

O Programa de Residência tem como objetivo principal a capacitação dos residentes para atuar com competência e responsabilidade em sua área específica assim como atuar na promoção da saúde, através dos princípios base do sistema único de saúde.

## 2. DEPARTAMENTOS

### 2.1. Hospital Veterinário – UFRPE

O Hospital Veterinário (HOVET) da UFRPE, fica situado no bairro de Dois Irmãos, na cidade do Recife, Pernambuco. Nele são realizados de segunda a sexta,

atendimentos gratuitos para a comunidade durante todo o ano. Estes atendimentos são agendados por telefone, onde o animal é atendido por um médico veterinário clínico geral sendo posteriormente encaminhado para demais procedimentos e/ou outras áreas que assim demandar. O Hospital conta com vários ambulatorios, onde atuam professores, técnicos e residentes e vários setores entre eles o setor de imagem; setor de cirurgia; sala de fluidoterapia e laboratório de Patologia Clínica.

O laboratório de Patologia Clínica (Figura 2) atende à demanda da clínica de pequenos e grandes animais. Dispõe de vários métodos de diagnóstico laboratorial como hemograma; urinálise; testes bioquímicos; mielograma; análise de líquidos cavitários e teste de compatibilidade. Atualmente o laboratório conta com uma equipe constituída de professores, técnicos e residentes.



**Figura 2.** Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LPCV) da UFRPE no ano de 2021. Fonte: Arquivo Pessoal, 2021.

O setor atualmente, conta com um analisador automático para realização de hemograma da marca PROKAN, modelo PE6800 Vet, porém o mesmo está fora de uso por problemas técnicos e dificuldade na aquisição de material; um analisador bioquímico automático da marca Bioclin 1000 para realização de testes bioquímicos; 5 microscópios óticos onde são feitas as leituras de lâminas e contagens de células; uma citocentrífuga para preparação de lâminas; uma centrífuga; uma microcentrífuga para centrifugação de capilares sanguíneos; uma balança de precisão; um homogeneizador automático e vidrarias e materiais diversos, além de algumas geladeiras para armazenamento de material, três computadores, sendo um deles

para digitação e envio dos resultados dos exames e os outros destinados à configuração de microscópio e analisador bioquímico.

### **3. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES**

#### **3.1. Atividades Práticas**

O Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LPCV) fica localizado nas dependências do hospital Veterinário da UFRPE, e atende às demandas exigidas pelas várias áreas de atuação, é composto por uma equipe de residentes do primeiro e segundo ano que são responsáveis pela maioria das atividades desenvolvidas além de uma professora especialista na área e responsável pelo setor e uma veterinária responsável técnica, que atuam na supervisão das atividades realizadas.

A confecção dos exames que chegam ao laboratório obedece uma ordem cronológica que divide o exame em 3 fases: a primeira delas é a fase pré-analítica que compreende a entrada da amostra no recinto, nela observa-se a qualidade, quantidade e a viabilidade da amostra assim como as condições referentes à requisição e identificação. Quando a amostra se enquadra nos devidos pré-requisitos necessários, então será registrada no livro de registros do laboratório e seguirá para a análise. Em seguida, damos início a fase analítica em si que constitui ao processamento da amostra propriamente dito. No laboratório, cada técnica é regida pelos critérios descritos nos Procedimentos Operacionais Padrões (POP). Por último, tem-se a fase pós analítica que compreende a digitação, correção e envio dos resultados dos exames solicitados.

Durante o período da residência, foram realizados no LPCV, 7073 exames, divididos em: exames simples que compreendem, hemograma de pequenos, grandes e animais exóticos, contagem de reticulócitos, bioquímica sérica, urinálise, análise de líquidos cavitários, análise de fluido ruminal e teste de compatibilidade; e exames complexos, neste incluído o mielograma. Todos esses exames são realizados seguindo as recomendações descritas em seus respectivos POP's.

Os hemogramas atualmente são obtidos a partir de amostras coletadas em tubos de tampa roxa (EDTA), e são feitos de forma manual, com contagem total de células através da câmara de Neubauer, sendo utilizados uma diluição de solução de

Turk para contagem de leucócitos e de solução de Gower para contagem de hemácias. O hematócrito é obtido através da rotação de um capilar em microcentrífuga (KHT-400), na rotação de 12.000 rpm por 5-10 minutos a depender da espécie, onde posteriormente é obtido também a Proteína Plasmática Total por meio de refratometria. Por fim era realizado, por meio de microscopia (objetiva de 100x com óleo de imersão), a contagem diferencial de leucócitos em esfregaço sanguíneo. Ainda, quando solicitado junto ao hemograma, era feita a contagem de reticulócitos com uma diluição de solução de azul de metileno e contado de forma manual estimativa em lâmina de microscopia.

Análise de bioquímica sérica era feita por meio de um analisador automático da marca Bioclin 1000. A amostra de soro era obtida a partir de coleta de sangue em um tubo de tampa vermelha e/ou amarela e centrifugado a 3.600 rpm por cinco minutos. Posteriormente a amostra de soro era devidamente separada em um microtubo do tipo Eppendorf®, e nesse momento eram relatadas possíveis alterações na amostra, como lipemia, hemólise ou icterícia. Logo após, o soro era armazenado na geladeira conforme o tempo que levasse até ser analisado. A análise geralmente ocorria de uma a duas vezes por semana, a depender da demanda do hospital e também como forma de otimização dos insumos que se encontravam escassos no laboratório.

O exame de urina incluía três análises (física, química e sedimentoscópica). Para um exame acurado era exigido uma quantidade mínima de 5mL, quando não fosse possível, a avaliação sedimentoscópica ficava restrita apenas a avaliação qualitativa, refletindo apenas a presença ou ausência das estruturas presentes. Na avaliação física eram observados: cor, aspecto, volume e densidade por refratometria. A análise química da urina era feita por meio do uso de uma fita de urinálise, que avaliava o valor do pH e a presença de proteína, nitrito, urobilinogênio, sangue oculto, leucócitos, corpos cetônicos, bilirrubina e glicose. Por fim, 5mL da amostra era submetida a centrifugação a 1.200 rpm por 4 minutos para a sedimentação da amostra, depois disso descartava-se o sobrenadante e ressuspensava-se o sedimento, que era colocado em uma lâmina (cerca de uma gota), e sobre ela uma lamínula para então ser observado em objetiva de 10 e 40X, onde se observa: celularidade, presença de microrganismos, cilindros diversos, cristais, presença de muco e espermatozoides, entre outros.



Nos exames de líquidos cavitários, as amostras eram recebidas no laboratório em dois tipos de tubos diferentes, um contendo anticoagulante e outro sem. Após o recebimento, era feita a análise física, por meio da observação da cor e aspecto pré e pós centrifugação, presença de fibrina ou coagulação da amostra, além da mensuração da densidade e proteína por refratometria. Eram então confeccionadas lâminas através da técnica de *squash* e esfregação, tanto da amostra pré como da amostra pós-centrifugada. Posteriormente era feito a análise química da amostra através das fitas reagentes (as mesmas utilizadas na urinálise), e a depender da suspeita clínica e das características do líquido, este também era sujeito a análise bioquímica pelo analisador automático. Posteriormente era feita a contagem total de células nucleadas e de hemácias por métodos manuais utilizando a câmara de Neubauer. As lâminas eram confeccionadas a partir de uma amostra não centrifugada e de uma amostra previamente centrifugada a 1.200 rpm por 5 minutos e posteriormente essas lâminas eram coradas com panótico rápido e observadas no microscópio em objetiva de 40 e 100x com óleo de imersão. No caso da amostra ter uma celularidade muito baixa, a lâmina era confeccionada em citocentrífuga. Finalmente o exame era concluído com a classificação do tipo de líquido conforme os dados encontrados.

Para o teste de compatibilidade, era recebido no laboratório as amostras de sangue devidamente identificadas e acompanhadas de sua requisição, em tubo de EDTA, contendo no mínimo 2mL de sangue do animal doador e 2mL de sangue do animal receptor. Preferencialmente era realizado o hemograma de ambos, mas obrigatoriamente, era obtido no mínimo o hematócrito e Proteína Plasmática Total de ambos. As amostras eram então centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos afim de separar o plasma dos demais componentes. O concentrado de hemácias e o plasma eram acondicionados em tubos devidamente identificados para o doador e o receptor. No concentrado de hemácias de ambas as amostras, eram adicionados 3mL de solução de NaCl 0,9%, homogeneizado e centrifugando e depois descartando o sobrenadante, sendo repetida essa operação de "lavagem" por 3 vezes. Após isso era feito a suspensão de hemácia que consiste na adição de uma alíquota do concentrado de hemácia em 3 ml de NaCl a 0,9% para posterior confecção lâminas para leitura da prova maior, que consiste na adição de uma alíquota da suspensão de hemácias do doador + plasma do receptor; prova menor que consiste na adição da suspensão de

hemácia do receptor com o plasma do doador; controle do doador, que consiste na adição do plasma do doador com a suspensão de hemácias do doador; Controle do receptor, com plasma do receptor e suspensão de hemácia do receptor. Por fim, as lâminas eram incubadas em câmara úmida por 10 minutos e posteriormente eram observadas no microscópio na objetiva de 10 e 40x e avaliadas quanto a presença ou não de aglutinação.

O mielograma era de responsabilidade da professora Patologista Clínica responsável pelo laboratório e era feito através de agendamento prévio, a amostra vinha acompanhada obrigatoriamente de amostra para realização de hemograma, e as lâminas já vinham prontas para o laboratório, sendo confeccionadas pelo veterinário responsável pela coleta. Eram então coradas em panótico rápido e avaliadas cuidadosamente no microscópio.

### 3.1.1. Quantidade de exames realizados

Durante a vivência no LPCV foram recebidos um total de 7.073 exames entre hemograma, urinálise, teste de compatibilidade, bioquímicos, exame de líquidos cavitários e mielograma, distribuídos conforme a tabela 1.

**Tabela 1:** Quantitativo de exames realizados no LPCV durante os anos de 2020 a 2021.

Tipo do exame	Período		Total
	2020	2021	
<b>Bioquímicos</b>	3.341	1.847	5.188
<b>Urinálise</b>	133	227	360
<b>Hemograma</b>	139	1.345	1.484
<b>Análise de Líquidos Cavitários</b>	9	20	29
<b>Teste de Compatibilidade</b>	3	14	17
<b>Mielograma</b>	0	5	5
<b>Total</b>	3.625	3.458	7.083

Durante o período de março a dezembro de 2020 as atividades do Hospital Veterinário foram suspensas devido a pandemia do novo coronavírus. A partir de dezembro de 2020 foram retomadas gradativamente de forma reduzida em decorrência de problemas externos e internos inerentes a pandemia.

Os exames mais solicitados do laboratório foram as análises bioquímicas (73,24%), seguidas do hemograma (20,95%), urinálise (5,08%), análise de líquidos cavitários (0,40%), teste de compatibilidade sanguínea (0,24%) e por fim mielograma com 0,07%. Apesar do número de exames bioquímicos ter sido alto, esse valor poderia ser maior, tendo em vista a ocorrência de algumas eventualidades inerentes ao analisador automático, bem como a logística de aquisição de materiais e insumos do laboratório e também os efeitos da pandemia. Em virtude disso, os hemogramas tiveram um aumento nas solicitações quando comparado aos anos anteriores, sendo por um dado período de tempo, o principal exame solicitado ao laboratório, uma vez que as análises bioquímicas não estavam disponíveis. De forma geral o quantitativo de exames se encontra um pouco diminuído devido a essas eventualidades se comprados a períodos anteriores.

### **3.2. Atividades Teóricas**

As atividades teóricas e teórico-práticas se destinam a realização de disciplinas consideradas do núcleo comum obrigatório (para todos os residentes independente da área de atuação), que incluem: Bioestatística, Epidemiologia e Medicina Veterinária Preventiva, Metodologia Científica, Políticas Públicas de Saúde, Práticas em Políticas Públicas, Seminário de Conclusão de Residência e Integração Ensino Serviço; as disciplinas destinadas ao núcleo comum de área de concentração, ou seja, de áreas afins, estando incluída a disciplina de Procedimentos de Coleta de Material para Diagnóstico de Doenças em Animais; e também as disciplinas consideradas do núcleo específico de área de concentração, neste núcleo foi oferecida a disciplina Fórum de Discussão e Atualização em Patologia Clínica Veterinária, ministrada pela professora dra<sup>o</sup> Miriam Teixeira, que incluía apresentação de seminários com discussões de casos clínicos atendidos na rotina e assuntos específicos.

### **3.3. Vivência em Saúde Pública**

Às atividades em Saúde Pública foram realizadas no segundo semestre de 2020, do dia 03 de junho ao dia 29 de novembro e foram desenvolvidas, excepcionalmente, devido ao estado de Pandemia pelo COVID-19, na cidade de Garanhuns, no interior de Pernambuco. Onde foi possível acompanhar a equipe de

Vigilância em Saúde: Vigilância Sanitária do município (Figura 3) e de forma interativa com as demais Vigilâncias (epidemiológica e ambiental) onde foi possível conhecer e compreender as questões referentes ao Sistema Único de Saúde (SUS).

A vivência no Sistema Único de Saúde (SUS) é uma experiência interdisciplinar obrigatória que o Programa de Residência em Área Profissional de Saúde da Universidade Federal Rural de Pernambuco oferece para os médicos veterinários residentes, onde o médico veterinário acompanha a rotina e vivencia a Vigilância em Saúde atuante na saúde pública. Pode ser considerado um instrumento fundamental para complementar a formação e a educação dos profissionais de saúde. A respeito das atividades desenvolvidas na Vigilância em Saúde do município de Garanhuns no período de 03/06/2020 a 29/11/2020, segue elencadas as principais na tabela a seguir.

**Tabela 2:** Atividades realizadas no município de Garanhuns-Pe. No período de 03 de junho a 29 de novembro de 2020.

Vigilância em Saúde	Principais atividades realizadas
<b>Vigilância Sanitária</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Ações de fiscalização/inspeção de departamentos de produção, distribuição ou armazenamento de produtos de origem animal ou derivados.</li> <li>• Confecção de materiais educativos</li> <li>•Ações de vigilância de controle e prevenção frente a pandemia do Covid-19 (Figura 4 A-B e).</li> <li>•Mapeamento de casos positivos de Covid-19</li> <li>•Liberação de licença Sanitária (Figura 5).</li> <li>•Ações em conjunto a vigilância Epidemiológica e ambiental</li> </ul>



**Figura 3.** Equipe de Vigilância Sanitária atuante no município de Garanhuns-Pe no ano de 2020. Fonte: Arquivo Pessoal, 2020.



**Figura 4.** A-Residente devidamente equipada para ação de enfrentamento ao COVID-19.B-Ação da vigilância Sanitária de Garanhuns frente a pandemia de COVID-19, vigilância dos enterros das vítimas da doença. Fonte: Arquivo Pessoal, 2020.



**Figura 5.** Ação de fiscalização/inspeção para liberação de licença Sanitária no município de Garanhuns-Pe. Fonte: Arquivo Pessoal, 2020.

#### **4. CONCLUSÃO**

Foi possível concluir que o esse tempo destinado às atividades ligadas ao SUS, proporciona aos residentes um grande aprendizado sobre a importância da inserção dos profissionais médicos veterinários no sistema único de saúde, bem como na saúde da população como um todo. Sedo conferido ao profissional da saúde inserido na saúde pública o papel importantíssimo de diminuir os riscos e controlar os efeitos da pandemia. Apesar de desafiador, o conhecimento adquirido é inegável, principalmente no que diz respeito a situação de pandemia global vivenciada.

## **CAPÍTULO II – REVISÃO DE LITERATURA**

### **INCLUSÕES INTRALEUCOCITÁRIAS**

#### **1. INTRODUÇÃO**

Os leucócitos são células presentes no organismo de seres vivos e compõe o sistema imunitário destes. Estas células estão contidas no sangue, linfa, órgãos linfoides e diversos outros tecidos do animal e vão determinar a resposta inata e específica do hospedeiro frente a qualquer desordem que ele venha a apresentar, seja ela infecciosa ou não. Possuem características distintas quanto à forma, número, tamanho, formato do núcleo, funções e também tintorial. Sendo, por tanto, divididos em dois grandes grupos celulares com base nessas características: polimorfonucleares e mononucleares.

Dentre o grupo dos polimorfonucleares temos os neutrófilos, eosinófilos e basófilos. Os neutrófilos são responsáveis pela primeira linha de defesa do organismo frente as infecções. Os basófilos são responsáveis pela síntese de substâncias de importância para a saúde. Os eosinófilos possuem efeitos contra parasitas e alguns microrganismos e reações de hipersensibilidade.

Dentre os mononucleares temos os monócitos que são células responsáveis pela fagocitose de restos celulares, microrganismos e substâncias estranhas ao organismo. Os linfócitos que são células responsáveis pela formação da resposta imune de todos os animais.

As interpretações das alterações leucocitárias não se restringem apenas às suas contagens absolutas e relativas. Sendo necessária uma avaliação microscópica do esfregaço sanguíneo, para observação de alterações morfológicas inerentes às células propriamente ditas e à presença de microrganismos que possam estar presentes. Algumas afecções podem gerar certas alterações no interior dos leucócitos que chamamos de inclusões intraleucocitárias que geralmente se dá pela presença

ou ação do microrganismo dentro dessas células e podem ser vistos através de uma avaliação microscópica do esfregaço sanguíneo.

O exame de microscopia é feito por meio da leitura de um esfregaço sanguíneo ou de medula através do qual é possível a observação das estruturas no interior das células, de forma prática, barata e rápida por um profissional especialista. Podendo, portanto, servir como teste de triagem e de grande valia para o clínico.

Muitas vezes esses achados possuem valor diagnóstico, facilitando a conduta clínica e fortalecendo a prática laboratorial. Muitas são as inclusões que podem ser encontradas nos animais domésticos. Entre as inclusões causadas por microrganismos, podemos citar como as mais comuns a inclusão de lentz, a mórula de *Ehrlichia spp*, a forma amastigota de *Leishmania spp*, o gamonte de *hepatozoon spp*, o *Anaplasma spp*, entre outros. Dentre as inclusões induzidas por causas diversas, podemos citar, por exemplo, a granulação tóxica dos neutrófilos, corpúsculo de Döhle, grânulos azurófilos em linfócitos e vacuolização citoplasmática, siderleucócitos, eritrófago células LE (lúpus eritematoso), neutrófilos contendo grânulos de mastócitos, entre outros. Além destas causas de inclusões tem-se algumas doenças hereditárias como: Síndrome de Chediak-Higashi; Gangliosidose (GM1 e GM2); anomalia hereditária de granulação dos gatos da Bismânia e por fim as mucopolissacaridose do tipo I, IIIB, VI e VII.

O presente trabalho objetivou realizar uma revisão de literatura das principais inclusões intraleucocitárias em cães e gatos.

## **2. INTRODUÇÃO AOS LEUCÓCITOS**

Os leucócitos são células presentes no organismo de seres vivos e compõe o sistema imunitário destes. Estas células estão contidas no sangue, linfa, órgãos linfoides e diversos outros tecidos do animal e vão determinar a resposta inata e específica do hospedeiro frente a qualquer desordem que ele venha a apresentar, seja ela infecciosa ou não (STOCKHAM e SCOTT, 2011; SILVA, 2017). Possuem características distintas quanto à forma, número, tamanho funções e também tintorial sendo, por tanto, divididos em dois grandes grupos celulares com base nessas características em polimorfonucleares e mononucleares (SILVA, 2017).



O grupo dos leucócitos polimorfonucleares é composto por aqueles que possuem várias formas nucleares (polimorfo) e também são chamados de granulócitos por seu citoplasma ser repleto de grânulos contendo enzimas hidrolíticas. São eles: neutrófilos, eosinófilos e basófilos nos mamíferos (HARVEY, 2012; SILVA, 2017).

O grupo dos leucócitos mononucleares são representados pelos linfócitos e monócitos, que são células que não possuem grânulos visíveis no seu citoplasma sendo chamados, portanto, de agranulares. (GONZÁLEZ e SILVA 2008; SILVA, 2017).

Os neutrófilos são células que circulam na corrente sanguínea por apenas algumas horas. Nos animais saudáveis eles migram para os tecidos de órgãos como: pele, intestino e pulmões fornecendo proteção contra possíveis infecções. Elas também são recrutadas para locais de infecção, combatendo-a através de vários mecanismos (WEISS e WARDROP, 2010). Na resposta inflamatória, os neutrófilos migram para os tecidos e constituem assim a primeira linha de defesa do organismo, não somente contra bactérias (bactericida), mas também contra outros tipos de agentes e ainda são considerados os leucócitos mais abundantes no sangue periférico de cães e gatos (SILVA, 2017).

Os basófilos são células que contêm várias substâncias de importância biológica, além de ter o poder de sintetizar algumas substâncias imunológicas e não imunológicas. Possui grânulos ricos em histamina, heparina e em algumas espécies, serotonina. Ainda pode atuar na síntese do fator ativador plaquetário, substâncias de reação à anafilaxia e tromboxano (GONZÁLEZ e SILVA, 2008).

Os eosinófilos tem origem semelhante aos neutrófilos. São células especializadas em agir contra parasitas multicelulares, reações alérgicas e anafiláticas, possuem também, assim como os neutrófilos, ação fagocítica e bactericida e correspondem a cerca de 3-5 % dos leucócitos circulantes (SILVA, 2017).

Os monócitos são considerados os fagócitos, pois possuem a capacidade de fagocitar vários tipos microrganismos como: protozoários, bactérias e leveduras, além de células velhas ou danificadas, restos celulares e corpos estranhos. Contudo, ainda

estão envolvidos na destruição fisiológica de hemácias assim como a reciclagem do ferro das mesmas (THRALL et al., 2015).

Os linfócitos são considerados os únicos leucócitos capazes de recircular no organismo dando a eles um excelente poder de resposta imune seja ela específica ou sistêmica (SILVA, 2017). Os linfócitos T são os principais responsáveis pela resposta imune celular e a eles também compete a estimulação da produção de anticorpos pelos linfócitos B, que são as células credenciadas à formação da resposta imune humoral (WEISS e WARDROP, 2010).

### **3. GRANULOCITOPOESE**

Os leucócitos geralmente são originados na medula óssea em animais adultos saudáveis e eventualmente extramedular em órgãos linfóides como o baço, linfonodos e fígado em animais jovens ou com alterações que demandem alta produção neutrofílica (THRALL et al., 2015). Essas células são produzidas por um processo denominado leucopoiese no qual vão ser formados os diferentes tipos de leucócitos a depender dos estímulos e necessidades do organismo. Nela é compreendido a granulopoiese, a linfopoiese e a monocitopoese (GONZÁLEZ e SILVA, 2008).

A granulopoiese é estimulada por meio de alguns elementos que irão agir aumentando o número de mitose, diminuindo o tempo de maturação e ainda, aumentando a liberação de granulócitos para corrente sanguínea. Entre os principais elementos temos as seguintes citocinas indutoras: fator estimulante de colônia de granulócitos (G-CSF), fator estimulante de colônia de granulócitos e monócitos (GM-CSF) e algumas interleucinas (IL-1, IL-3, IL-5 e IL-6) (LUCIDI e TAKAHIRA 2007).

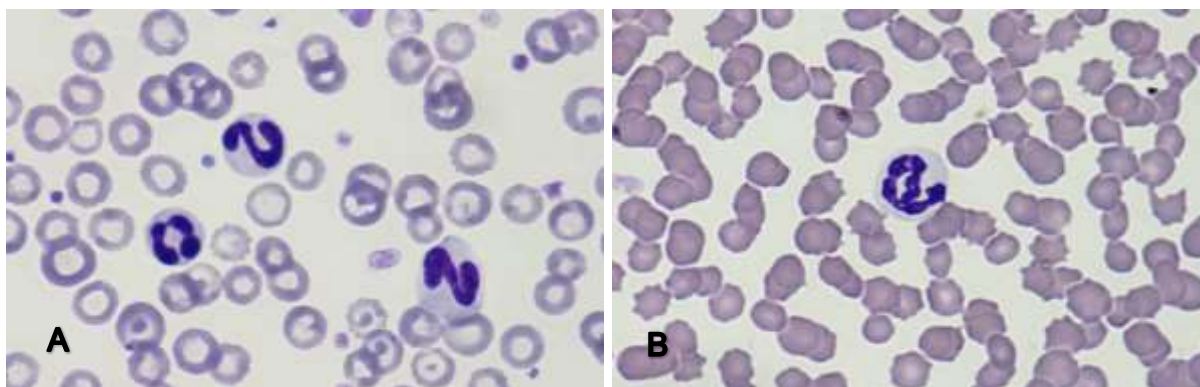
Na granulopoiese são produzidos os granulócitos: neutrófilos, eosinófilos e basófilos. Onde uma célula pluripotencial chamada de “stem cell”, dá origem a uma Unidade Formadora de Colônia (UFC) mielomonocítica a qual se diferencia apenas em UFC mielocítica ou granulocítica (SILVA, 2017). As células tronco que dão origem aos granulócitos são morfologicamente indistinguíveis daquelas que dão origem às demais células e passam por um processo chamado de diferenciação celular, ocorrendo sua proliferação e posterior maturação (THRALL et al., 2015).

A sequência dos estágios de maturação dos granulócitos quanto a sua morfologia compreendem: os mieloblasto, pró-mielócito, mielócito e meta-mielócito, bastonete e célula segmentada (BARBOSA, 2018). Nos três estágios iniciais, as células sofrem mitoses e se multiplicam no espaço medular denominado compartimento de multiplicação. E a partir do estágio de metamielócito a célula apenas amadurece, não se dividindo mais. O bastonete por sua vez amadurece se transformando em uma célula segmentada (SILVA, 2017).

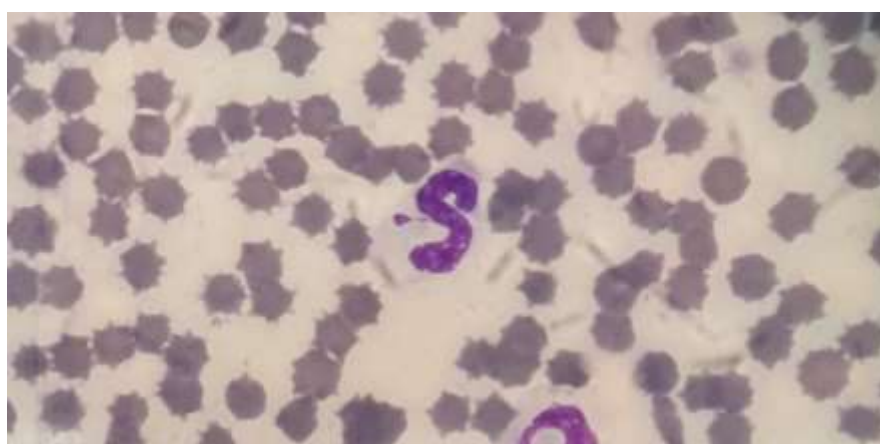
O mieloblasto é a primeira célula passível de ser identificada no processo de formação dos granulócitos, quando comparados a blastos de outras linhagens, são considerados de difícil distinção. São células produtoras de grânulos primários, que são produzidos logo após a maturação e que geralmente não se coram com os corantes convencionais, dificultando assim a diferenciação do tipo celular (THRALL et al., 2015).

Os mielócitos são as células seguintes ao processo de maturação e são responsáveis pela produção dos grânulos secundários que são fundamentais para o processo de diferenciação dos neutrófilos, eosinófilos e basófilos (THRALL, et al., 2015). A partir daí o processo de maturação celular vai ocorrer com os grupos de metamielócitos, bastonetes e segmentados consistindo em alterações nucleares que envolvem condensação nuclear progressiva e alterações morfológicas desses núcleos. No metamielócito o núcleo pode apresentar endentação, no bastonete formato de ferradura e no segmentado o núcleo pode apresentar dois ou mais segmentos (SILVA, 2017).

Os neutrófilos (Figura 6) possuem aparência semelhante entre as espécies de canino e felino. Possuem um núcleo alongado, com várias segmentações e cromatina densa. As fêmeas podem possuir uma projeção nuclear decorrente do cromossomo X inativado chamado de corpúsculos de Barr (Figura 7). O citoplasma se apresenta claro contendo finos grânulos (COWELL e VALENCIANO, 2020).



**Figura 6.** A neutrófilos segmentados de um cão em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (objetiva de 100X). B- Neutrófilo segmentado de um gato em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (objetiva de 100 X). Fonte: Arquivo pessoal, 2022.



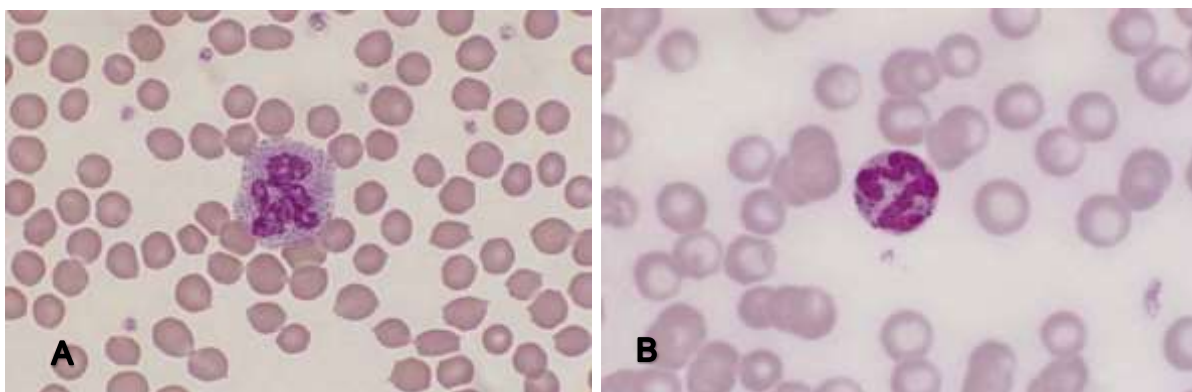
**Figura 7.** Neutrófilo de uma fêmea felina contendo um corpúsculo de Barr, em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (objetiva de 100X). Fonte: Arquivo pessoal, 2021

O neutrófilo é considerado maduro quando uma área do núcleo tem um diâmetro menor que 2 terços do diâmetro de qualquer outra área do núcleo mesmo que só possua 2 lóbulos nucleares. Ocasionalmente neutrófilos jovens são liberados na corrente sanguínea de animais normais. No entanto, quando em elevada quantidade, reflete uma anormalidade. Os mais frequentemente encontrados são os bastonetes, seguidos por metamielócitos e mielócitos e, raramente, os blastos (HARVEY, 2012).

Algumas alterações nos neutrófilos representam alterações de maturação que ocorrem pelo aceleração do processo de neutropoiese e podem refletir doenças de cunho inflamatório. Como exemplo tem-se os neutrófilos tóxicos, que são células que apresentam citoplasma espumoso, basofilia citoplasmática, corpúsculos de Döhle e granulação tóxica e geralmente estão relacionadas às infecções bacterianas graves. Também podem ser observados neutrófilos gigantes, maturação celular assíncrona e neutrófilos hipersegmentados (STOKHAM e SCOTT, 2011). Além dessas alterações, é possível observar ainda, inclusões que representam a presença de algum material

fagocitado, incluindo outras células, debrís celulares e agentes infecciosos (COWELL et al., 2009).

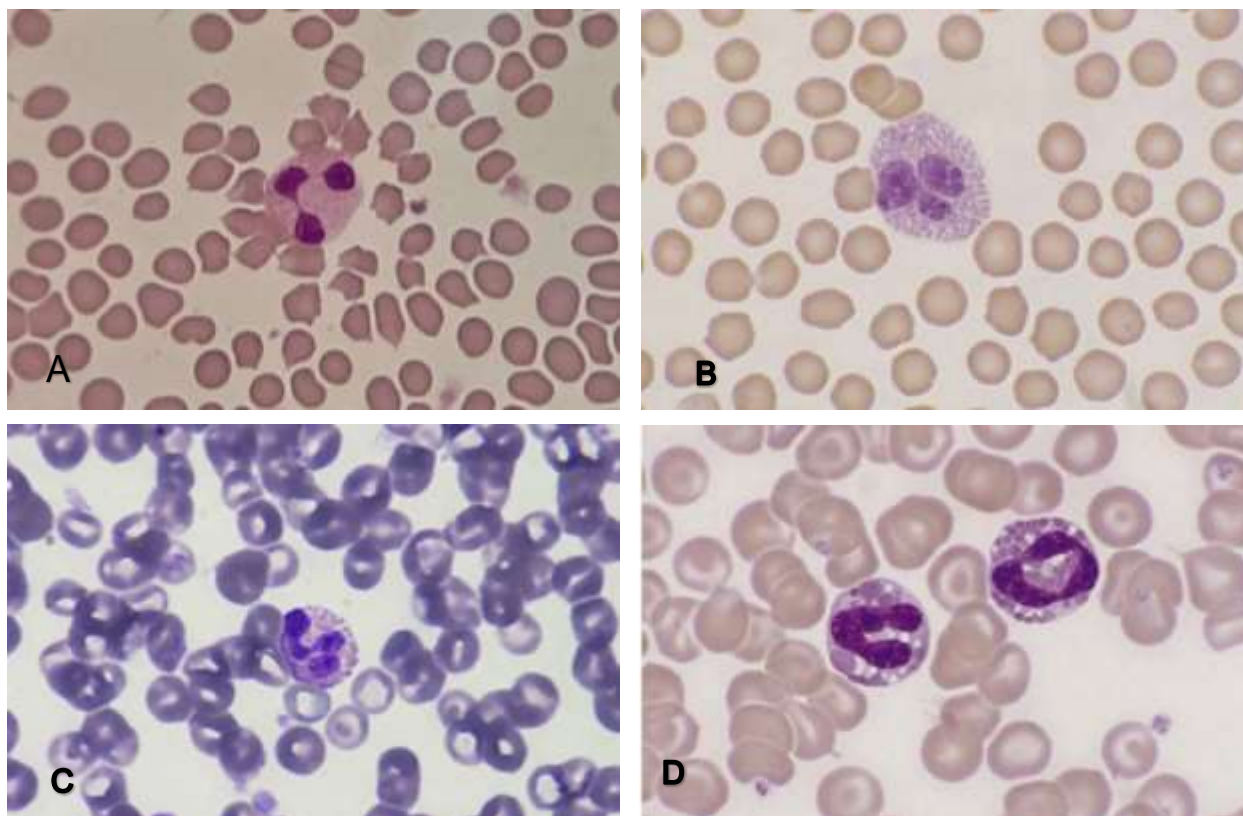
Os basófilos (Figura 8 A-B) quando maduros, são considerados os maiores granulócitos, o seu núcleo cora-se menos fortemente, possui menos segmentos e estes são mais longos que os demais. O citoplasma se apresenta azul acinzentado, leve a moderadamente roxo e pode conter grânulos azul-escuro a metacromáticos ou estes podem estar ausentes a depender da idade da célula e da espécie (COWELL et al., 2009).



**Figura 8.** **A-** Basófilo de um felino em um esfregaço sanguíneo, coloração de Wright, ampliação de 250X. **B-** Basófilo de um canino em um esfregaço sanguíneo, coloração de Wright, ampliação de 250X. Fonte: Cowell e Valenciano, 2020.

Estas células raramente podem ser encontradas na maioria das espécies, com exceção dos equinos, onde pode aparecer com uma certa frequência. Nos felinos os grânulos são pequenos, redondos e corados na cor azul lavanda. Nos cães se apresentam em pouca quantidade, pequenos e redondos, corados na cor roxa. (REGAN et al.,1998)

Os eosinófilos são discretamente maiores que os neutrófilos maduros, assim como os núcleos, que apresentam menos lobulações e cromatina menos condensada. O citoplasma se apresenta claro a levemente basofílico, contendo grânulos rosas proeminentes que variam de tamanho e quantidade a depender da espécie (COWELL et al., 2009). Nos caninos (Figura 9 C-D) os grânulos são redondos e de tamanhos variados; nos felinos (Figura 9 A-B) são em formato de bastonete e abundantes, preenchendo o citoplasma (REGAN et al.,1998).



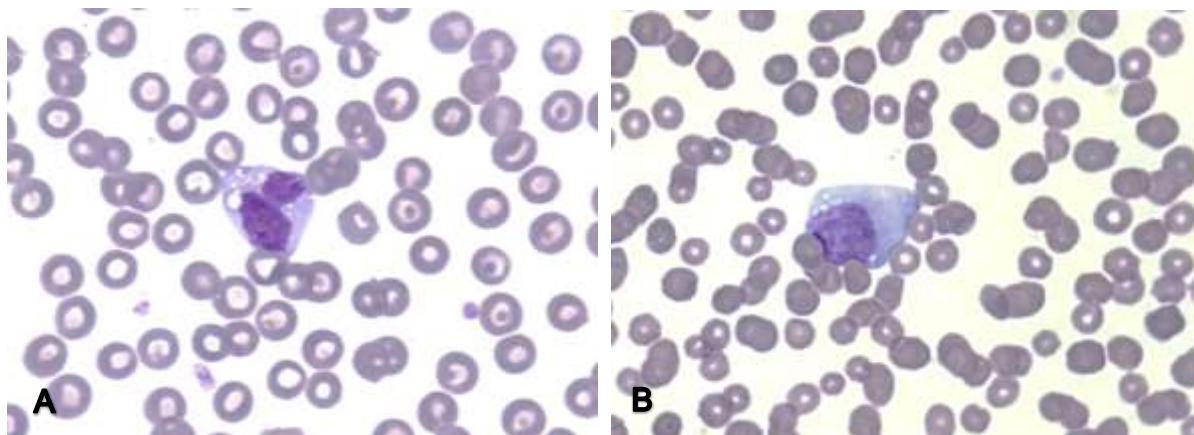
**Figura 9.** **A-** eosinófilo de um felino contendo grânulos finos, em um esfregaço de sangue periférico corado com panótico rápido (objetiva de 100x) - (Fonte:Arquivo pessoal, 2021). **B-** Eosinófilo de um felino com grânulos mais densos corados com wright, ampliação de 250X (Fonte: Cowell e Valenciano, 2020). **C-** Eosinófilo de um canino em um esfregaço corado com panótico rápido (objetiva de 100X) (Fonte: Arquivo pessoal, 2022). **D-** Eosinófilo de um canino em um esfregaço corado com Wright, 330X (Fonte: Cowell e Valenciano, 2020).

#### 4. MONOCITOPOESE

Monocitopoese compreende a produção de monócitos, células essas que se originam de uma “stem cell” mielóide que se divide em uma UFC- Granulocítica-monocítica e posteriormente em UFC-monocítica que dá origem ao monoblasto, que por meio de mitoses forma dois pró-monócitos, que posteriormente darão origem aos monócitos maduros circulantes no sangue periférico e definitivamente em macrófagos nos tecidos (SILVA, 2015).

Os monócitos dos caninos (Figura 10-A) e felinos (Figura10-B) são células maiores que neutrófilos e de tamanho parecido com eosinófilos e basófilos; possuem bastante pleomorfismo nuclear, seu citoplasma é moderado a abundante, de cor azul

acinzentado, e ocasionalmente pode conter vacúolos (COWELL e VALENCIANO, 2020).



**Figura 10.** A-Monócito de um canino em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (objetiva de 100X). B- Monócito de um felino em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (objetiva de 100X). Fonte: Arquivo pessoal, 2022.

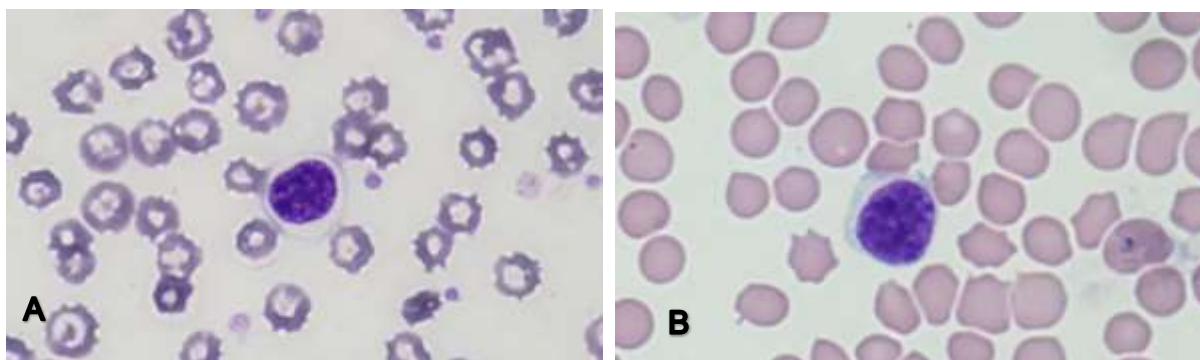
## 5. LINFOPOESE

A produção de linfócitos conhecida como linfocitopoiese ou linfopoiese compete à medula óssea e também aos órgãos linfóides timo, linfonodo, baço, tonsilas e placas de Payer. A princípio os linfócitos são derivados da medula e sofrem maturação nos órgãos linfóides e medula óssea. (THRALL et. al. 2015).

Na formação dessas células uma “Stem Cell” pluripotencial irá se diferenciar em uma “stem cell” linfóide e posteriormente em um linfoblasto, que com a continuação do processo de produção se transformará em um pró-linfócito e em seguida em linfócito maduro. A sua produção é induzida por diferentes graus e tipos de estimulação antigênica. A partir disso ocorrerá a diferenciação de linfócitos B e T. Os linfócitos B geralmente são induzidos pelas interleucinas IL-7 e IL-2, os linfócitos B, sofrem diferenciação e maturação sob estímulo da IL- 4 e as células Natural Killer (NK) pelas interleucinas IL-15 (BARBOSA, 2018).

Os linfócitos maduros (Figura 11 A-B) podem ter morfologias distintas num esfregaço sanguíneo, devido a ação de diversas forças mecânicas de confecção e também relativa ao contato com os eritrócitos. O tamanho desta célula também é variável principalmente nos ruminantes e podem se apresentar como pequenos, quando o núcleo cabe dentro de um neutrófilo; médios quando o núcleo do linfócito é

do mesmo tamanho do neutrófilo; ou grandes, quando o núcleo do neutrófilo pode caber dentro do núcleo do linfócito (SILVA, 2017).



**Figura 11.** A-Linfócito de um cão em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (objetiva de 100X). B- Linfócito de um felino em um esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (objetiva de 100X). Fonte: Arquivo pessoal, 2022.

Alterações morfológicas de linfócitos como basofilia e vacuolização citoplasmática, pleomorfismo nuclear e agregação de cromatina nuclear podem indicar uma reatividade linfocítica (TRHALL et al., 2015; SILVA, 2017), indicando uma resposta imune ativa do organismo. Outra alteração morfológica que pode ser encontrada são pequenos grânulos avermelhados no citoplasma do linfócito. Estas células são chamadas de linfócitos granulares e, provavelmente, são as células T citotóxicas ou natural Killer. Elas podem estar presentes em pequena quantidade no sangue de animais saudáveis. Quando em número elevado, pode se referir a condições reativas como as relacionadas a *Ehrlichia canis* e alguns tipos de leucemias (SILVA, 2017).

## 6. TÉCNICA DE EXTENSÃO SANGUÍNEA

A avaliação do esfregaço sanguíneo é considerada uma parte essencial de um hemograma, fundamental para a avaliação ampla do paciente pois é capaz de fornecer uma variedade de informações diagnósticas, em alguns casos até levar a um diagnóstico definitivo de forma imediata e além disso, o monitoramento das alterações encontradas podem auxiliar no prognóstico, cura e tratamento a ser instituído e assim como a sua resposta a ele (COWELL et al., 2009). O exame microscópico do esfregaço sanguíneo é considerado uma parte fundamental do hemograma, ele auxilia na contagem celular obtida por meio de um e hemocítômetro, possibilitando uma avaliação cruzada dos resultados numéricos obtidos por ele e propiciando uma rápida estimativa da quantidade de leucócitos e plaquetas (VADEN et al., 2013). Os

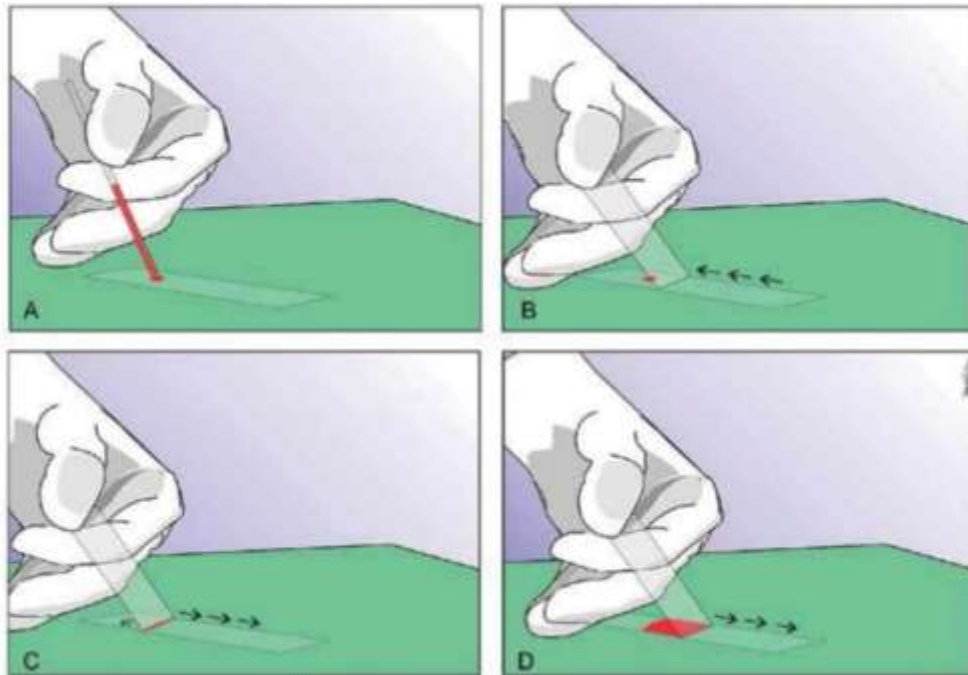


esfregaços sanguíneos devem ser examinados sob uma objetiva de 100X e microscopia de luz para detectar a presença de alterações importantes ligadas à morfologia celular e também à presença de microrganismos e suas inclusões (HARVEY, 2012).

A avaliação microscópica dos leucócitos é considerada uma das partes mais importante do leucograma, principalmente no que se refere à detecção de alterações quantitativas de qualquer uma das células. Além disso, também auxilia na avaliação morfológica (qualitativa) das mesmas, subsidiando diagnóstico e até prognóstico adicionais que não seriam obtidos sem a microscopia (STOKCHAM e SCOTT, 2011).

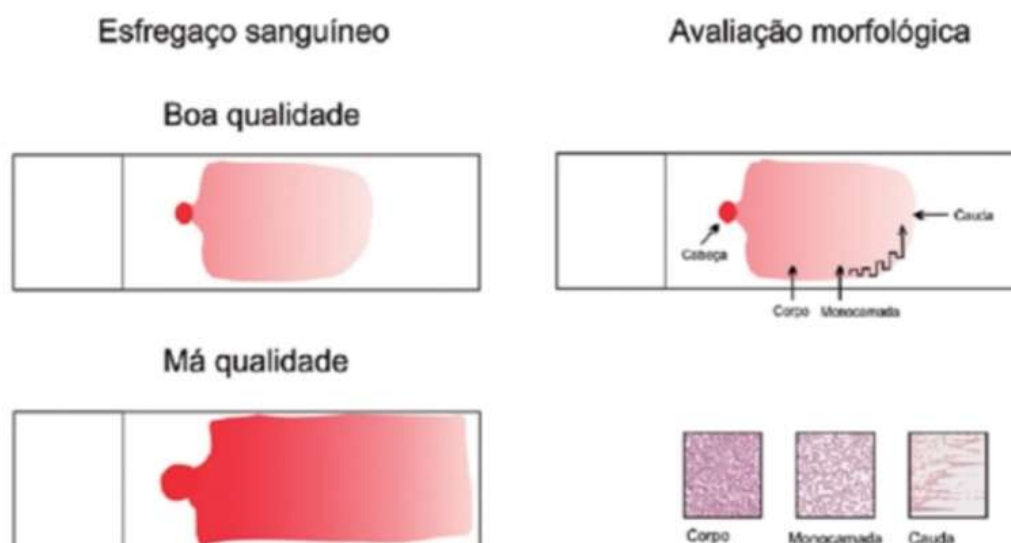
Conforme Silva (2017), o esfregaço sanguíneo é obtido através de uma gota de sangue distendida sob uma lâmina de microscopia e são utilizados no intuito de fazer a avaliação morfológica e diferencial dos hemogramas de rotina na veterinária, bem como, investigar a presença de alterações hematológicas e presença de microrganismos. Segundo Cowell et al. (2009), a preparação do esfregaço sanguíneo é uma tarefa fácil e de baixo custo.

Para que se possa obter esfregaços de boa qualidade (Figura 12), primeiramente, necessitamos de lâminas de qualidade, sem ranhuras e limpas. Extensoras com borda uniforme, sem ranhura e sua porção final deve ocupar cerca de 3 /4 da lâmina. O volume de sangue deve ser equivalente a 2 ou 3 gotas (bisel da agulha) de sangue, quanto maior a quantidade, mais grosso será o esfregaço (SILVA et al., 2009). Esse sangue deve ser colocado sobre a lâmina e, com uma segunda lâmina posicionada a um ângulo de 30 a 45°, vai-se encontrar o sangue de frente para trás até encostar no sangue, quando então, vai-se deslizar a lâmina extensora utilizando de força mínima, com um movimento único e rápido (THRALL et al., 2015). Cowell et al. (2009), salientam a importância da homogeneização do sangue antes da confecção do estirado e também da secagem da lâmina ao ar antes da coloração.



**Figura 12.** Etapas de um esfregaço sanguíneo. **A-**Deposição da gota de sangue na lâmina; **B** – arrastando a lâmina extensora na frente da gota até o seu encontro; **C-** encontro da gota com a extensora; **D-** movimento de espalhar o sangue sobre a lâmina. Fonte: Silva, 2017.

O esfregaço possui três áreas (Figura 13): corpo, que é a área mais espessa, apresentando células arredondadas e sobrepostas de difícil diferenciação e avaliação; área de leitura, constituída de uma monocamada de células que facilita a visualização e fica situada entre a cauda e o corpo do esfregaço, e é onde se faz o diferencial do leucograma e avaliação celular; por último a cauda ou franja que corresponde a parte final do esfregaço onde geralmente ficam as estruturas artefatuais, microrganismos, agregações e células grandes (TRHALL et al., 2015).



**Figura 13.** Demonstração da morfologia do esfregaço e suas partes. Fonte: Silva, 2017.

A fase que antecede a avaliação microscópica do esfregaço é a coloração, na hematologia, os corantes mais utilizados são do tipo Romanowsky (panótica), que são misturas de sais ácidos e básicos e são divididos em 3 categorias: tradicionais (May-grünwald Giemsa, Leishman e Wright); corantes rápidos e corante único (SILVA et al., 2009). Cowell et al. (2009), falam da vantagem dos corantes do tipo Romanowsky, por serem menos sensíveis às variáveis como o pH da solução e tempo de coloração e menos susceptíveis à formação de precipitados se comparado aos corantes Wright. E que, em contrapartida, as colorações rápidas podem ser menos efetivas à detecção de hemácias policromáticas.

Em algumas situações pode se usar a técnica da concentração da capa leucocitária. O creme leucocitário (*Buffy Coat*), que consiste em uma área esbranquiçada localizada logo em cima da coluna de hemácias. Utiliza-se esta técnica de esfregaço de leucócitos concentrados na pesquisa de mastócitos, células neoplásicas e microrganismos como por exemplo, *Leishmania* spp, *Hepatozoon* sp, *Ehrlichia* spp, *Anaplasma phagocytophilum*, *Trypanosoma* spp e *Histoplasma Capsulatum* (VADEN et al., 2013). A técnica consiste na preparação de um micro-hematócrito, que é centrifugado pela mesma técnica de obtenção de hematócrito normal. Posteriormente este é quebrado na região do creme leucocitário e o concentrado celular, correspondente a capa leucocitária, é então depositado em uma

lâmina para confecção de um esfregaço. É um exame útil para pesquisa de células neoplásicas e agentes infecciosos do sangue periférico (RASKIN e MEYER, 2012).

## **7. INCLUSÕES INTRALEUCOCITÁRIAS**

Algumas afecções podem gerar certas alterações no interior dos leucócitos que chamamos de inclusões intraleucocitárias que geralmente se dá pela presença ou ação do microrganismo dentro dessas células e podem ser vistos através de uma avaliação microscópica do esfregaço sanguíneo, além dessas causas, outras inclusões que não possuem origem infecciosa podem estar presentes nessas células como por exemplo temos as inclusões de origem genética/hereditária e também inclusões que são resultantes da função fagocítica das células ou relacionadas ao processo de maturação acelerada (STOKCHAM e SCOTT, 2011).

### **7.1. Inclusões diversas**

No sangue podem ser encontradas inclusões diversas nos leucócitos, que não estão ligadas diretamente à presença de agentes infecciosos. Algumas inclusões são resultantes da capacidade de algumas células em fazer fagocitose, por exemplo: os siderleucócitos que são neutrófilos que fagocitaram hemossiderina; o eritrófago que são neutrófilos ou monócitos que fagocitaram hemácias em alguns casos de anemia imunomediada; células LE (lúpus eritematoso) que são neutrófilos que fagocitaram complexos antígeno-anticorpo; neutrófilos contendo grânulos de mastócitos, entre outros. Além dessas causas de inclusões tem-se algumas doenças hereditárias raras como: Síndrome de Chediak-Higashi; Gangliosidose (GM1 e GM2); anomalia hereditária de granulação dos gatos da Bismânia e por fim as mucopolissacaridose do tipo I, IIIB, VI e VII (STOKCHAM e SCOTT, 2011).

As inclusões sideróticas, são formadas a partir da degradação do ferro no organismo (hemossiderina) e podem ser observadas em neutrófilos e monócitos de animais com anemia hemolítica. Podem ser confundidas com corpúsculos de Döhle, por isso, em casos suspeitos, as lâminas devem ser submetidas a coloração especial para assim diferenciá-los (HARVEY,2012).

A síndrome de Chediak-Higashi, é uma enfermidade hereditária caracterizada pelo albinismo oculocutâneo parcial, aumento da susceptibilidade a infecções, e

alterações da hemostasia (HARVEY, 2012). Pode acometer alguns animais domésticos incluindo algumas raças de felinos e caninos, e podem afetar neutrófilos, eosinófilos e basófilos que vão apresentar grandes grânulos em seu citoplasma, resultante da fusão dos lisossomos (STOKCHAM e SCOTT, 2011).

A gangliosidiose é dividida em GM1 e GM2. A GM1, afeta algumas raças de cães e gatos e é uma doença hereditária causada pela deficiência de b-galactosidase, onde os linfócitos podem apresentar pequenas vacuolizações citoplasmáticas. Já a GM2, causada pela deficiência de b-hexosaminidase, implicam em vacolização proeminente e granulação azurofílica em linfócitos assim como a presença de grânulos azul-escuro em neutrófilos (*ap ud*).

No que se refere à anomalia hereditária de granulação dos gatos da Bismânia esta é uma doença inerente aos gatos da Bismânia de raça pura. Geralmente o animal não apresenta sinal clínico nenhum (HARVEY, 2012). A doença está relacionada a uma característica autossômica recessiva, apresentando granulação eosinofílica fina e proeminente no citoplasma dos neutrófilos (STOKCHAM e SCOTT, 2011). Thrall et al. (2015), ainda ressalta que a anomalia deve ser distinguida da granulação tóxica dos neutrófilos que geralmente se apresenta de forma mais grosseira

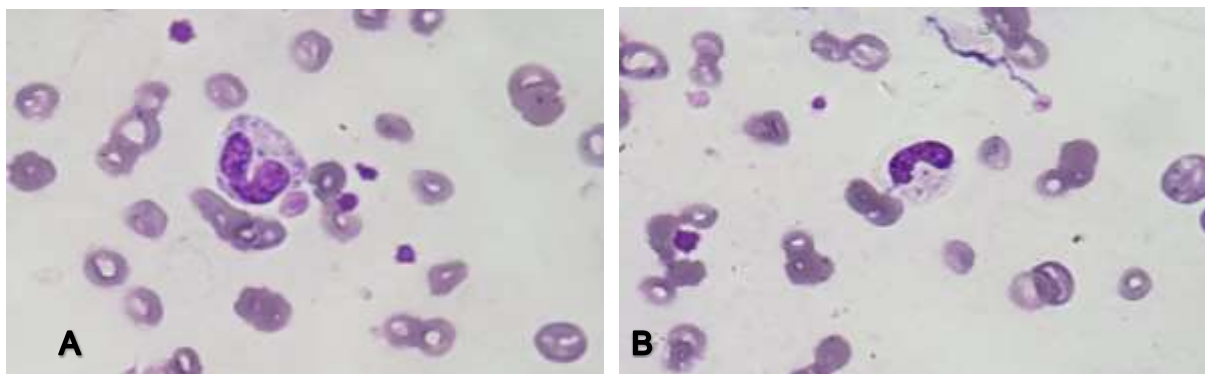
A mucopolissacaridose é uma doença sistêmica de origem genética que se dá pela deficiência de enzimas lisossomais específicas, causando um acúmulo lisossomal. Ela possui origem genética e é considerada rara. Os sinais clínicos vão variar de acordo com o tipo de enzima que se encontra deficiente e onde se localiza o acúmulo lisossomal (VEIGA et al., 2007). Os tipos de mucopolissacaridose que levam a formação de inclusões no interior dos leucócitos são: Tipo I, acomete tanto cães quanto gatos e é causada pela deficiência da enzima a-L- iduronidase e é responsável pela formação de pequenos grânulos rosas no citoplasma de neutrófilos de felinos, porém não visualizadas em microscopia ótica de rotina; Tipo IIIB, é inerente a caninos, e é causada pela deficiência de N-Acetil- a-D- glicosaminidase e pode levar a uma granulação escura anormal em linfócitos; Tipo VI, pode acometer algumas raças de cães e gatos, decorrente da deficiência de arilsulfatase B e é caracterizada pela presença de neutrófilos contendo grandes grânulos púrpuro-avermelhados em seu citoplasma. Por último tem-se a Mucopolissacaridose do tipo VII, que ocorre

devido a uma falta de b-glicuronidase, podendo acometer cães e gatos apresentando características semelhantes a anterior (STOKCHAM e SCOTT, 2011).

Algumas inclusões leucocitárias são inerentes ao processo de hematopoese, devido a alguma alteração desencadeante. Como explica Cowell et al. (2009), as alterações tóxicas dos leucócitos são consideradas as alterações morfológicas mais comuns de serem observadas em neutrófilos nos esfregaços sanguíneos, e podem ser resultantes de uma granulopoiese anormal que, devido a um processo sistêmico, repercutiu na medula óssea. São exemplo dessas alterações: corpúsculo de Döhle, e granulações tóxicas. Segundo Vaden et al. (2013), essas granulações tóxicas possuem bastante importância diagnóstica e podem indicar a presença de uma inflamação relevante, pois advém dos efeitos oriundos das citocinas inflamatórias ou toxinas liberadas pelos microrganismos sob o desenvolvimento celular na medula óssea.

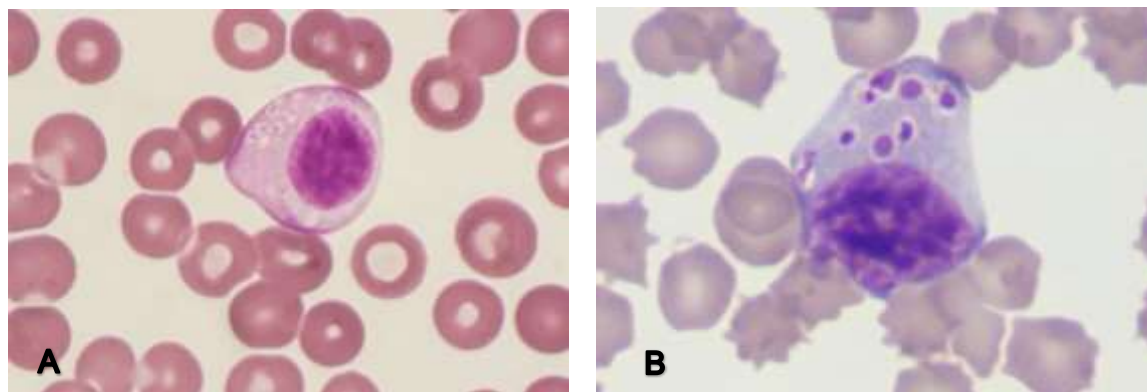
Corpúsculo de Döhle (Figura 14), é uma alteração tóxica de neutrófilos e seus precursores. São inclusões citoplasmáticas de coloração azulada, compostas por agregados contidos no retículo endoplasmático rugoso e pode ser observado em gatos sem sinais clínicos aparentes. Devem ser diferenciados de grânulos de ferro, corpúsculos de Lentz e grânulos de animais com síndrome de Chediak-Higashi (HARVEY, 2012).

A granulação tóxica (figura 14), não é considerada um achado comum. Esses grânulos representam os grânulos primários de mucopolissacarídeos que ficaram retidos durante o processo de maturação celular. Geralmente se apresentam dispersos no citoplasma, possuem tamanho pequeno e se coram de uma cor vermelho-rosado (COWELL et al., 2009).

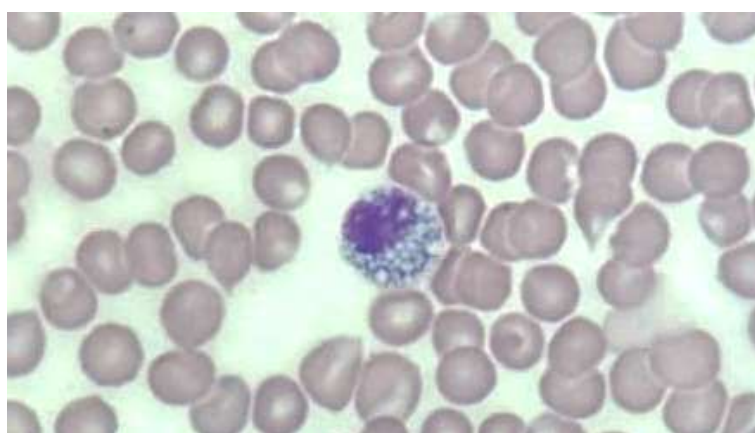


**Figura 14.** A e B Neutrófilos bastonetes apresentando granulação tóxica e corpúsculos de Döhle no interior do seu citoplasma em esfregaço de sangue periférico de um gato. Fonte: Arquivo pessoal, 2022.

Os linfócitos podem apresentar algumas alterações morfológicas e elas podem possuir tanto valor diagnóstico quanto as alterações quantitativas. Ocasionalmente, os linfócitos podem apresentar granulações de coloração eosinofílica no interior do seu citoplasma, se acumulando geralmente de um lado do núcleo (linfócitos granulares), e essas células são as células *natural Killer* ou células T. (VADEN et al., 2013). Os linfócitos granulares (figura 15) geralmente, estão em baixa quantidade no sangue, seus grânulos intracitoplasmáticos podem adquirir uma coloração vermelha ou púrpura e podem ocorrer em doenças inflamatórias e neoplásicas (HARVEY, 2012). Além desses, existem os linfócitos reativos que podem variar de tamanho entre pequenos, médios e grandes e são indicadores da estimulação antigênica dessa célula (VADEN et al., 2013). Quando reativos, os linfócitos podem apresentar também uma maior basofilia citoplasmática, alguns podem se assemelhar a monócitos e precursores eritróides e podem ser difíceis de diferenciar de uma célula neoplásica. Além disso, alguns linfócitos são denominados plasmocitóides ou células de Mott (Figura 16) eles possuem glóbulos citoplasmáticos compostos por imunoglobulinas, azulados a rosa, chamados de corpúsculos de Russell (HARVEY, 2012). Segundo Trhall et al. (2015), essas células diferenciadas são plasmócitos, especializados na produção de imunoglobulinas.



**Figura 15.** **A-** Linfócito contendo granulações citoplasmáticas em esfregaço sanguíneo de cão, corado com panótico rápido sob objetiva de 100 X, fonte: arquivo pessoal, 2021. **B -** Linfócito granular de um felino com linfoma granular, corado com Wright e sob ampliação de 1000X. Fonte: Eclinpath, 2022.



**Figura 16.** Célula de Mott em esfregaço sanguíneo de cão, corado com panótico rápido, sob objetiva de 100X. Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

## 7.2. Inclusões por microrganismos

Além das inclusões chamadas diversas, também é possível que agentes infecciosos causem alterações morfológicas com formação de inclusões nos leucócitos. Por tanto, é indispensável uma avaliação detalhada do esfregaço sanguíneo, visto que podem ser observadas a presença de mórulas de *Ehrlichia canis*, gametócito de *Hepatozoon canis*, entre outros (JERICÓ et al., 2015). As informações obtidas por meio de um esfregaço corado pode ser a primeira e, às vezes, até a única evidência da presença do agente infeccioso no animal, sendo que todas as observações morfológicas são úteis para o diagnóstico e posterior tratamento (MCVEY et al., 2016).

### 7.2.1. Inclusão de Lentz

A cinomose é uma doença viral causada por um vírus do gênero *Mobilivirus*. É considerada uma enfermidade altamente contagiosa e com enorme relevância na



clínica de pequenos animais por ser uma das principais causas morte de cães no mundo (PORTELA et al., 2017).

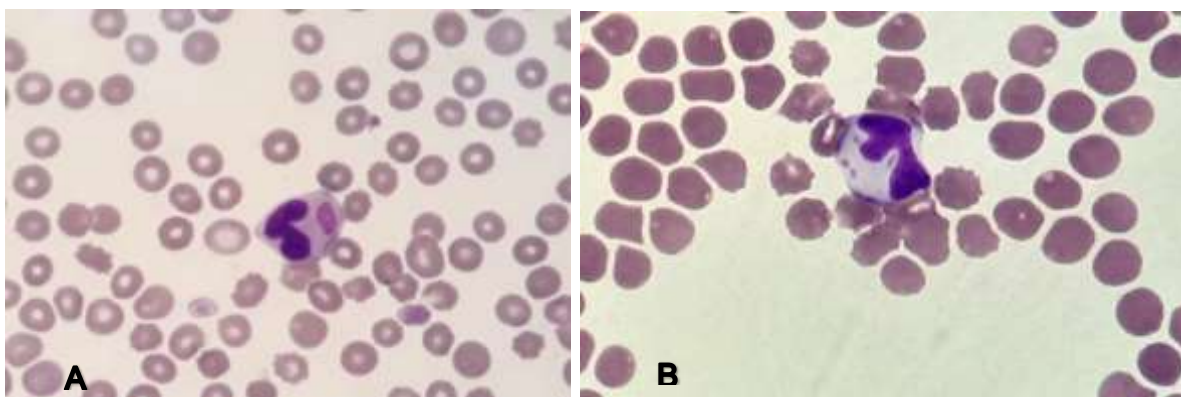
Pode acometer todas as idades. Porém, afeta preferencialmente, animais jovens, principalmente quando diminui a quantidade de anticorpos passivamente transmitidos pela mãe; além de animais não devidamente vacinados (MEGID et al., 2016). A doença tem distribuição enzoótica mundial e é considerada a segunda maior causa de morte nos cães, perdendo apenas para a raiva (NASCIMENTO, 2009). No Brasil, constitui uma doença endêmica e o vírus possui uma grande variabilidade genética (MARTINS et al., 2009).

O vírus se replica primeiramente nos macrófagos pertencentes ao sistema respiratório dos cães e se dissemina para os linfonodos regionais e para outros tecidos linforreticulares. Esse período é chamado de viremia e acontece entre 3 e 6 dias pós-infecção. Posteriormente ele se dissemina por via hematogena para outros sistemas, como trato gastrointestinal, urogenital e até o sistema nervoso central (SILVA et al., 2017).

Clinicamente cerca de 50% dos animais acometidos apresentam encefalomielite não supurativa aguda grave, que podem evoluir para um quadro de desmielinização crônica e em alguns casos pode ocorrer a manifestação tardia da doença conhecida como “ encefalite do cão velho” (JERICÓ et al. 2015). Podem ocorrer sinais clínicos no sistema digestório, respiratório, epitelial e neurológicos, podendo ocorrer de forma isolada, alternada ou em conjunto (MEGID et al., 2016).

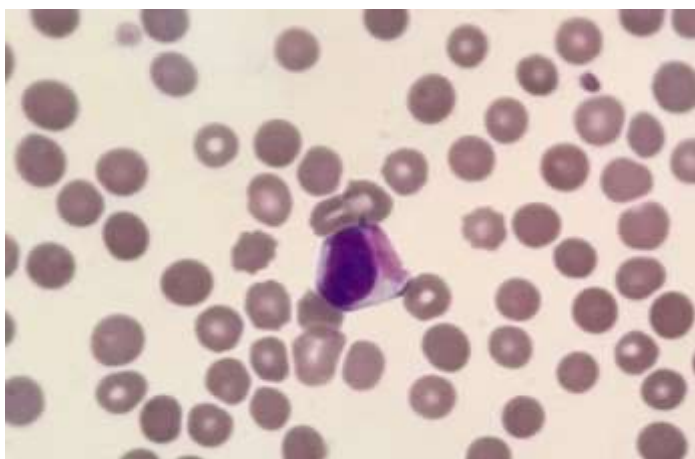
O diagnóstico é obtido por meio da junção da anamnese, sinais clínicos e histórico bem investigados e com o auxílio de outros meios como: isolamento do agente; teste imunoenzimático (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) ELISA; pesquisa de material genético através de Reação de Cadeia de Polímerase (PCR); Imunohistoquímica (IHQ); Imunofluorescência direta e indireta; e avaliação histopatológica e do sangue para pesquisa de inclusões intracelulares características – corpúsculo de Lentz (SOUZA FILHO, 2018; CASTILHO, 2019).

Os corpúsculos de Lentz, são estruturas formadas durante o processo de replicação viral no sangue e nas células endoteliais. São considerados transitórios e de rara detecção no sangue periférico. Quando encontrados na microscopia óptica, são estruturas eosinofílicas contidas no interior do citoplasma das células (CASTILHO et al., 2019). As inclusões podem ser difíceis de serem visualizadas em citoplasmas de neutrófilos (figura 17 A) corados com Wright ou Giemsa, sendo melhor observadas quando coradas em Diff-Quik, se apresentando facilmente como inclusões avermelhadas de formato irregular a redondo/oval (HARVEY, 2012; VADEN et al., 2013) Vaden et al. (2013) explica que para aumentar a chance de encontrar essas inclusões nas células, pode-se fazer a avaliação da preparação da camada leucocitária.



**Figura 17. A.** Inclusão de Lentz em neutrófilo de cão positivo para cinomose. Objetiva de 100X, panótico rápido. **B-**Inclusão de Lentz em monócito de cão positivo para cinomose. Objetiva de 100X, panótico rápido. Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

Estes corpúsculos traduzem o efeito citopático do vírus, e são produzidos a partir do excesso de proteínas que não foram utilizadas pelo agente viral e debrís celulares da célula hospedeira e podem ser encontrados na fase inicial da doença, quando se tem uma alta replicação viral. Podem estar contidos em diferentes tipos celulares, em seu citoplasma ou núcleo. No sangue são mais frequentes em linfócitos (Figura 18), podendo também ser vistos em neutrófilos e hemácias (SOUZA FILHO, 2018). Nos linfócitos são grandes, isoladas e ovaladas (GREENE E CRAIG, 2015.)



**Figura 18:** Inclusão de Lentz em linfócito de cão positivo para cinomose. Linfócito apresentando inclusão intracitoplasmática de coloração róseo-avermelhada. Objetiva de 100X. Panótico rápido. Fonte: Arquivo pessoal, 2021

Segundo MEGID et al. (2016), as inclusões podem ser encontradas em aproximadamente 21% dos animais com a doença, sendo necessário o uso de um diagnóstico diferencial em animais que foram vacinados recentemente, visto que essas inclusões podem ser vistas em animais que receberam a imunização em até 2 semanas.

### 7.2.2. Mórula de *Ehrlichia* spp.

O gênero *Ehrlichia* corresponde a um grupo de bactérias Gram-negativas denominado *Rickettsias*. São microrganismos intracelulares obrigatórios, que infectam principalmente os glóbulos brancos do hospedeiro, mais precisamente monócitos, macrófagos e granulócitos. Se apresentam morfológicamente como cocobacilos pleomórficos de cerca de 0.5 mm de diâmetros (GREENE e CRAING, 2015). As espécies que acometem os cães são *Ehrlichia equi*, *E. ewing*, *E. chaffensis* e *E. canis*, sendo a última a mais prevalente (BORIN et al., 2009; MCVEY et al., 2016). A *E. canis*, *E. chaffensis* são os agentes causadores da erliquiose monocítica canina ou pancitopenia canina tropical. Já a *E. ewingii* causa a erliquiose granulocítica canina. (TAYLOR et al., 2017).

No aspecto epidemiológico, a erliquiose canina é uma doença de extrema importância, por sua prevalência ser bastante alta no Brasil, correspondendo a cerca de 20 a 30% das ocorrências das clínicas e hospitais veterinários do país. Além do que, atualmente, é considerada uma doença endêmica, principalmente nas áreas

urbanas (LEMOS et al., 2017). A doença acomete vários países tropicais e subtropicais e pode ser encontrada em várias regiões do Brasil (SILVA et al., 2011).

A erliquiose também é considerada uma zoonose. As espécies *E. canis*, *E. chaffeensis* e *E. ewingii* são as principais responsáveis pela doença em humanos, sendo que apenas a *E. canis* tem distribuição mundial. A *E. ewingii* é mais restrita a América do Norte (BORIN et al., 2009;). A primeira espécie tem como vetor principal o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. A *E. ewingii* e a *E. ruminantium* são transmitidas principalmente por carrapatos do gênero *Amblyomma* (MCVEY et al., 2016). Já a *E. chaffeensis* tem como vetores conhecidos, os carrapatos do gênero *Amblyomma americanum*, *Dermacentor Variabilis* e algumas espécies de *Ixodes* (NELSON e COUTO, 2015).

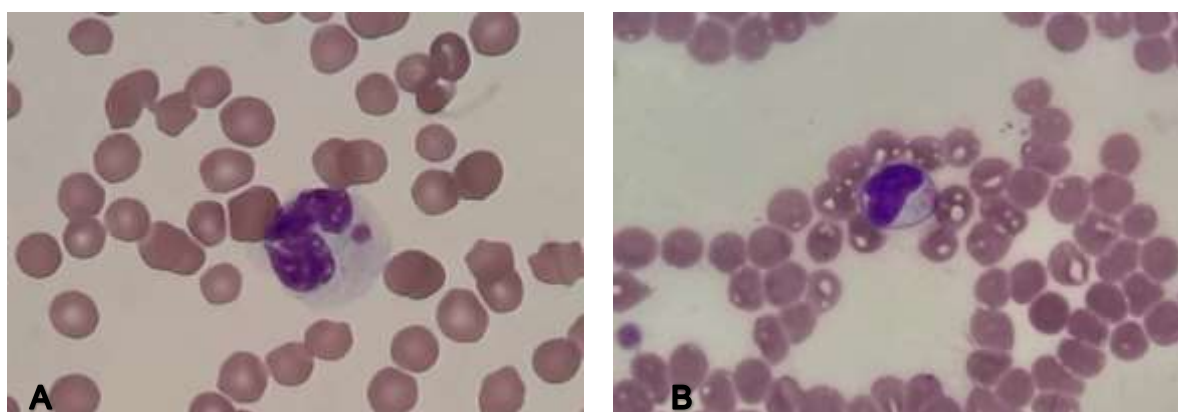
Esses microrganismos dão origem a uma doença muito comum na clínica de pequenos animais, sendo a principal causa infecciosa de trombocitopenia em cães, podendo acometer outras espécies incluindo, veados, lobos e chacais. Nos cães, a trombocitopenia, inicialmente, se dá pela destruição imunomediada das plaquetas e posteriormente evolui para uma aplasia de medula óssea levando a uma deficiente produção (THRALL et al., 2015).

Seu ciclo se dá na medula óssea, onde o agente pode ser visto dentro de vacúolos citoplasmáticos de células mononucleares, principalmente, monócitos e macrófagos jovens ou células maduras circulantes, podendo se apresentar tanto de forma isolada como em colônias arredondadas, com tamanhos diversos (DE SÁ et al., 2018).

A *E. canis* causadora da erliquiose monocitotrófica canina é uma bactéria gram-negativa de tamanho pequeno que se encontra em grupos dentro do citoplasma de monócitos e macrófagos formando mórulas (GREENE e CRAING, 2015). É considerada uma bactéria intracelular obrigatória e pleomórfica. Nos estágios iniciais se apresentam como pequenos corpúsculos elementares medindo cerca de 1,0 a 6 µm de diâmetro e que são corados de azul com o corante do tipo Romanowsky. A *E. Chaffeensis*, também é uma bactéria gram-negativa intracelular obrigatória cocóide e pleomórfica, se apresentando no citoplasma como aglomerados. Ela infecta primordialmente monócitos. No entanto, já foram descritas infecções em linfócitos, neutrófilos jovens e neutrófilos segmentados. As células infectadas geralmente

possuem uma ou duas mórulas podendo chegar até 15 em pacientes imunodeprimidos. Na microscopia de Luz as mórulas aparecem coradas em azul-escuro a roxo semelhante a uma amora quando coradas em corantes do duplo Romanowsky (PADDOCK e CHILDS, 2003). A *E. Ewingii* possui as mesmas características morfológicas, no entanto, pode ser encontrada com maior frequência em neutrófilos e eosinófilos (TAYLOR et al., 2017). As mórulas podem conter de um a 40 microrganismos e o espaço intramorular pode conter uma matriz fibrilar fina e estriada e túbulos intramorulares de 25 nm de diâmetro originada da membrana externa das células reticuladas (PADDOCK e CHILDS, 2003).

O diagnóstico é obtido através de anamnese e exame clínico, observação de carrapatos no animal, associado a exames laboratoriais. Observação das mórulas no esfregaço sanguíneo e associação com testes moleculares e sorológicos auxiliam no diagnóstico definitivo (LEMOS et al., 2017). A observação das mórulas de *Ehrlichia* spp (Figura 19) em lâminas de esfregaços sanguíneos é considerada uma técnica de baixa sensibilidade, visto que as mórulas em leucócitos são mais abundantes na fase aguda da doença, quando o animal apresenta maior parasitemia, aumentando as chances de falsos negativos. Em contrapartida, falsos positivos, apesar de serem menos prováveis, ainda podem ocorrer, devido a outras estruturas celulares serem passíveis de serem confundidas com as mórulas (GUEDES et al., 2015).



**Figura 19.** A- Presença de mórula sugestiva de *Ehrlichia* spp em neutrófilo de esfregaço sanguíneo de um gato, corado com panótico rápido, objetiva de 100x. B- Presença de mórula em neutrófilo de esfregaço sanguíneo de cão com suspeita de *Ehrlichia* spp, corado com panótico rápido, objetiva de 100x. Fonte: Arquivo pessoal, 2021

Para Paddock e Childs (2003), as mórulas podem ser encontradas em esfregaços sanguíneos comuns e em esfregaços da capa leucocitária, assim como em aspirados da medula óssea, e podem ser corados com vários tipos de corante. Por exemplo: Leishman, Diff-Quik, Wright e do tipo Romanowsky. Eles enfatizam ainda

que a sensibilidade do teste é baixa e que, mesmo quando detectadas, as mórulas estão presentes em menos de 5% dos leucócitos circulantes, dificultando assim a chance de serem visualizadas rotineiramente. Além disso, outras alterações como corpúsculos de Döhle, granulações tóxicas, microrganismos como bactérias e fungos fagocitados, plaquetas e detritos sobrepostos são passíveis de serem confundidos, da mesma forma alterações inerentes à síndrome de Chediak-Higashi.

### 7.2.3. Gamonte de Hepatozoon

A hepatozoonose é uma doença causada pelo agente *Hepatozoon* sp, um protozoário que é transmitido por algumas espécies de artrópodes como carrapatos, ácaros, piolhos, mosquitos, entre outros. Várias espécies de animais são acometidas pela doença incluindo: caninos silvestres e domésticos, felinos silvestres e domésticos e outras espécies de carnívoros (HONÓRIO et al., 2017), além de uma larga variedade de outros animais como marsupiais, insetos, roedores, répteis e invertebrados hematófagos (ZANANI, 2015).

Pode ser considerada uma enfermidade oportunista, podendo ser causada pelas variantes *Hepatozoon canis* e *Hepatozoon americanum*. Contudo, acredita-se que apenas o primeiro acometa animais no Brasil (JERICÓ et al., 2015).

A transmissão do agente se dá pela ingestão do vetor, geralmente afetando animais jovens, devido sua imaturidade imunológica e também aqueles animais que apresentam uma doença concomitante e/ou quadros debilitantes e imunodrepressivos (ANTUNES et al., 2015). Esses fatores, são considerados agravantes pois, podem levar ao aumento da parasitemia e, conseqüentemente, ao aparecimento da doença clínica devido ao favorecimento da reativação dos esquizontes presentes nos tecidos (PEREIRA et al., 2021).

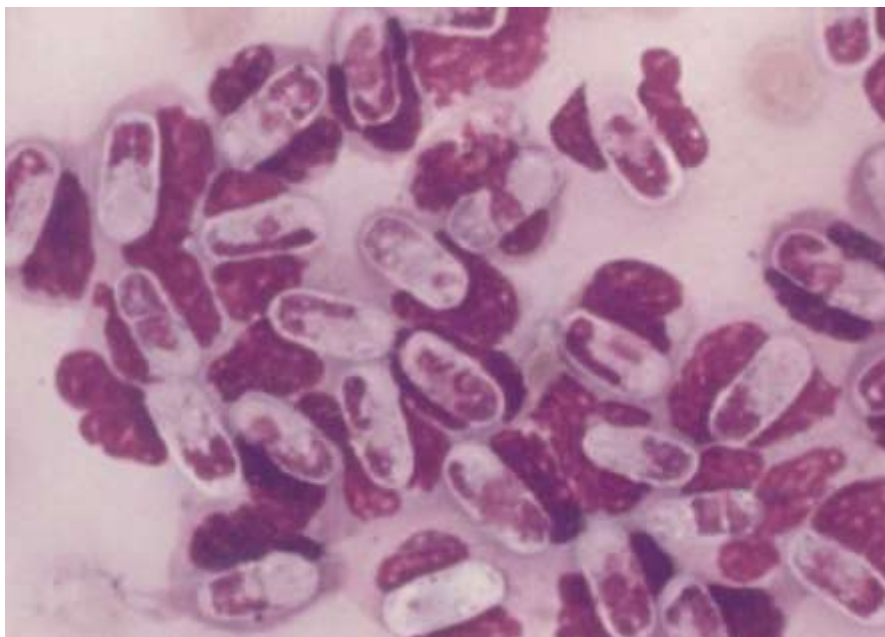
A doença se distribui geograficamente de acordo com a distribuição dos seus vetores, principalmente, em regiões tropicais, subtropicais e de clima temperado. No Brasil, observa-se ampla distribuição pelas regiões do país, e alta prevalência em animais de áreas rurais. No Nordeste, há relatos nos municípios de Recife no estado de Pernambuco, e Patos e Areia, ambos na Paraíba (DEMONER et al., 2013; BERNADINO et al., 2016). Já foram descritos em várias regiões do mundo como: Europa, Oriente médio, Ásia, África e América do Sul (LASTA, 2008).

Há relatos de infecção por via transplacentária e por meio da predação de indivíduos infectados com cistozoítas, que são considerados um estágio infeccioso, e pode estar presente nos tecidos dos hospedeiros. Acredita-se que cães infectados sejam fontes de infecção para esses vetores por bastante tempo (meses a anos). (NELSON e COUTO, 2015).

A infecção do vetor ocorre quando ele ingere o agente durante o repasto sanguíneo. No vetor se desenvolverão os oocistos, cada um contendo de oito a 16 esporozoítos. Já a infecção do animal se dá após a ingestão do vetor contaminado, onde os esporozoítos são liberados infectando os fagócitos mononucleares e células endoteliais de vários órgãos e formam cistos contendo macro e micromerontes. Os micromerontes invadem os leucócitos, principalmente monócitos e neutrófilos, e se desenvolvem posteriormente em gamontes (NELSON E COUTO, 2015; DEMONER et al., 2013).

Quanto às alterações hematológicas, estas são dependentes de alguns fatores como: carga parasitária, resposta imunológica e a associação com outras infecções. Geralmente incluem diminuição da série eritróide e de plaquetas, além de uma resposta inflamatória no leucograma (ANTUNES et al., 2015).

Em animais com alta parasitemia (cerca de 100% dos neutrófilos infectados) (Figura 20), os achados leucocitários podem incluir leucocitose bastante elevada (150.000 leucócitos/ $\mu$ L de sangue), compreendendo a forma grave da doença que pode levar à morte. Animais com baixa parasitemia (menos de 5% dos leucócitos infectados pelos gamontes) representam a forma mais comum da doença e cursa como a forma branda ou assintomática (GREENE e CRAING, 2015). No hemograma ainda podemos encontrar uma linfopenia e uma monocitose (JERICÓ et al., 2015).



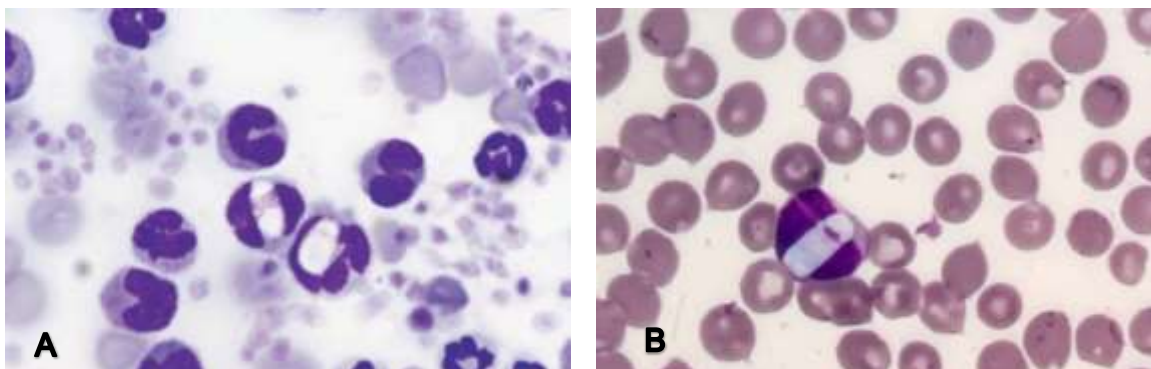
**Figura 20.** Esfregaço sanguíneo de cão com leucocitose e parasitemia elevada por *H. canis*, corados por Giemsa. Quase 100% dos neutrófilos parasitados pelos gamontes (1.000x). Fonte: Greene e Craing, 2015.

O diagnóstico definitivo se dá pela identificação os gamontes em neutrófilos ou monócitos em esfregaços sanguíneos corados preferencialmente por Giemsa ou Leishman ou por meio da identificação do agente em células de tecidos enviados para biopsia; além de testes sorológicos e moleculares (NELSON e COUTO, 2015). Segundo Megid et al. (2016), os esfregaços de sangue devem ser feitos preferencialmente do sangue de ponta da orelha e serem corados com giemsa, panótico e similares e pode ser feito um cálculo estimando-se a frequência dos neutrófilos infectados pelos gamontes e posteriormente multiplicado essa frequência pelo número total de neutrófilos/ $\mu$ l de sangue.

Pode ser necessário a confecção de vários esfregaços para detecção dos gamontes e estes podem ser encontrados com mais facilidade em esfregaços obtidos da capa leucocitária do que quando comparados aos esfregaços de sangue de rotina (WEISS e WARDROP, 2010; GREENE e CRAING, 2015; DA CRUZ, 2019).



Os gamontes são estruturas elipsoides, com cerca de 11  $\mu\text{m}$  x 4  $\mu\text{m}$ , envolvidos por uma membrana espessa. Localizam-se geralmente no interior da célula sanguínea afetada, comprimindo o seu núcleo. A concentração deles tende a aumentar com a gravidade da doença (GREENE e CRAING, 2015). No entanto, a detecção das estruturas por meio da microscopia não é considerada um método sensível. Visto que, os gamontes nem sempre são encontrados em animais com parasitemia baixa ou na fase crônica da doença. Porém, deve ser considerado em pacientes em fase aguda e com suspeita clínica, por ser uma forma rápida e menos onerosa de diagnóstico (ANTUNES et al., 2015; Da CRUZ, 2019; PEREIRA et al., 2021). O *Hepatozoon americanum* (Figura 21-A) é mais difícil de encontrar, visto que geralmente parasita apenas, cerca de 0,1% dos leucócitos circulantes. Morfologicamente é bem similar aos gamontes de *H. canis* (Figura 21- B). Aparecem como cápsulas oblongas, coradas na cor azul claro ou transparentes, com o núcleo levemente corado. Eles medem cerca de 8,8  $\mu\text{m}$  por 3,9  $\mu\text{m}$  dentro do citoplasma de monócitos e neutrófilos (GREENE e CRAING, 2015).



**Figura 21.** A-Gamontes de *H. americanum* em neutrófilos circulantes corados com Giemsa (1.200x). Fonte: Greene e Craing, 2015; B- Presença de gamontes de *Hepatozoon* spp em leucócito de cão, em esfregaço sanguíneo corado em panótico rápido, objetiva de 100X. Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

#### 7.2.4. Mórula de *Anaplasma phagocytophilum*

A *Anaplasma phagocytophilum*, é o agente etiológico responsável pela anaplasmoze granulocítica, uma doença que acomete várias espécies, incluindo humanos, caninos, felinos equinos e ruminantes (FALCÃO et al., 2014; MCVEY et al., 2016). O *A. phagocytophilum* tem potencial de infectar uma grande variedade de mamíferos no mundo inteiro, mas só foram documentadas a ocorrência da doença clínica, nas espécies citadas a cima. Ela é uma bactéria da família *Anaplasmataceae* que anteriormente pertencia ao gênero *Ehrlichia*, mas devido a estudos no

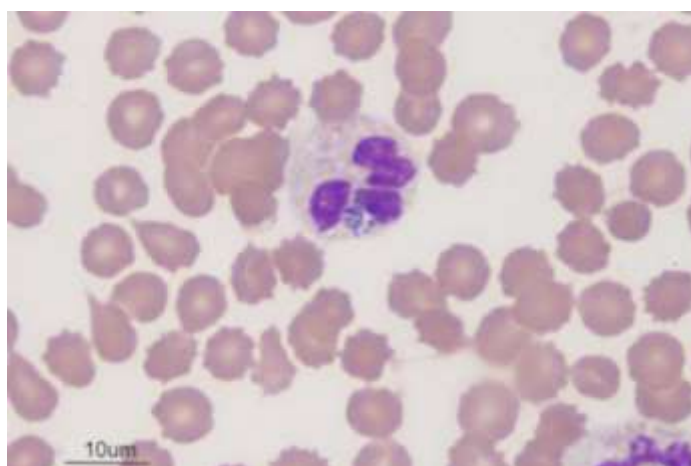
sequenciamento genético foi alocada no gênero *Anaplasma* (GREENE e CRAING, 2015).

É uma doença transmitida por carrapatos *Ixodes* spp e os principais reservatórios são os roedores. Porém pode haver variação conforme a localidade (MCVEY et al., 2016). Os cães atuam como sentinelas para a infecção dos humanos, sendo possíveis fontes de infecção por carregarem os vetores potencialmente infectantes (carrapatos) (FALCÃO et al., 2014). Além de roedores e mamíferos selvagens e domésticos, as aves também foram documentadas na disseminação de vetores infectantes em alguns países e, além da transmissão pelo carrapato, foram relatadas a transmissão nosocomial em humanos por contato direto com sangue ou secreções respiratórias de um paciente doente, transfusão sanguínea, perinatal entre pessoas e transplacentária em vacas (GREENE e CRAING, 2015).

Os sinais clínicos da doença aparecem entre 1-2 semanas após a infecção e cursam com sintomatologia inespecífica, entre elas: febre, vômito, inapetência, letargia, dores musculares entre outras (JERICÓ et al., 2015). Morfologicamente a *A. phagocytophilum* são pequenos micro-organismos intracelulares obrigatórios e gram-negativos que possuem morfologia cocoide/elipsóide, imóveis e pleomórficos, variando de 0,2 a 2 µm de diâmetro. São microrganismos aeróbios obrigatórios que necessitam da via glicolítica e são desprovidos de parede celular, sendo altamente sensíveis ao estresse mecânico (GREENE e CRAING, 2015).

A *Anaplasma phagocytophilum* possui tropismo pelos leucócitos polimorfonucleares, principalmente os neutrófilos, onde são capazes de formar mórulas (TRINCHEIRAS et al., 2019). Esses microrganismos residem nos vacúolos celulares das células maduras e imaturas dos seus hospedeiros. Infectam principalmente as células da linhagem mieloide da medula óssea, majoritariamente os neutrófilos e raramente eosinófilos (GREENE e CRAING, 2015). Segundo Santos, (2011), o percentual de neutrófilos contendo mórulas durante a fase aguda da doença, varia de 7 a 32%. Quanto ele é fagocitado por estas células, vai agir impedindo a fusão do fagolisossomo, o que irá permitir a sua multiplicação no interior do fagossomo, dando-lhe o aspecto de mórula quando visualizado sob microscopia de luz (JERICÓ et al., 2017).

O diagnóstico da doença é feito através da observação das mórulas em esfregaços sanguíneos (principalmente durante a fase de bacteremia que vai de 4-9 semanas), detecção de anticorpos através Imunofluorescência direta, testes moleculares (PCR) e ELISA (FALCÃO et al., 2014; GREENE e CRAING, 2015). As inclusões citoplasmáticas podem ser encontradas em esfregaços espessos e finos e obtidos de amostra de sangue ou papa leucocitária, corados com corante policromático (giemsa) durante a fase clínica inicial da infecção, onde os microorganismos se replicam nos fagossomos dos granulócitos (MCVEY et al., 2016). Em cães experimentalmente infectados, as mórulas (Figura 22) começaram a parecer nos neutrófilos cerca de quatro dias após a inoculação e persistem por até oito dias (SANTOS, 2011).



**Figura 22.** Presença de mórula de *A. phagocytophilum* em neutrófilo de canino em esfregaço sanguíneo corado com Wright, objetiva de 100x. Fonte: Eclinpath, 2022.

Em gatos apesar da presença da inclusão intraleucocitária ser considerada um indício forte da doença, alguns estudos demonstram baixa sensibilidade do teste, hematoscópico, quando confrontado com outros testes. A presença de corpúsculos de Döhle ou corpúsculos de Barr, são passíveis de serem confundidos com as mórulas do agente (PINTO et al., 2018).

Ainda segundo GREENE e CRAING (2015), a observação das mórulas em líquidos corporais e em tecidos pode estabelecer o diagnóstico de uma doença causada por uma riquetsia granulocitotrópica, mas não dá para definir precisamente qual o tipo, tendo em vista que a inclusão do *A. phagocytophilum* é basicamente indistinguível microscopicamente daquelas causadas por *Erlichia ewingii* por exemplo, que parasitam os mesmos tipos celulares. Além disso, também podem ser confundidas com certos artefatos de lâmina e precipitados basofílicos. No entanto, a

identificação de mórulas nos neutrófilos circulantes constitui o método diagnóstico mais rápido e com melhor custo benefício.

#### 7.2.5. Amastigota de *Leishmania spp.*

As espécies do gênero *Leishmania* são microrganismos ovoides que se instalam no interior de macrófagos de várias espécies incluindo o homem, cães domésticos e selvagens e felinos, causando a leishmaniose, uma doença que pode cursar tanto com uma forma cutânea quanto visceral (URQUHART et al., 1998). Nos felinos domésticos a infecção é considerada rara e ocorre principalmente nas regiões onde a leishmaniose canina é considerada endêmica (GREENE e CRAING, 2015).

A doença pode ser transmitida pelos mosquitos do gênero *Lutzomyia* e *Phlebotomus* e tem como reservatório, animais selvagens e domésticos. Os cães são os principais reservatórios da *Leishmania infantum* canina e humana em várias regiões do mundo (GREENE e CRAING, 2015). No Brasil, o principal vetor responsável pela transmissão da doença é o mosquito *Lutzomyia longipalpis*, conhecido popularmente como mosquito-palha e o cão é considerado o principal reservatório urbano da doença (VIEIRA e FIGUEIREDO, 2021). A infecção dos vetores ocorre durante o repasto sanguíneo, quando os flebotomíneos ingerem as formas amastigotas do hospedeiro infectado. Estas migram para o trato digestivo e se diferenciam em formas promastigotas infectantes, que migram novamente para a proboscíde dos mosquitos, onde serão inoculados no hospedeiro (KRÜGER et al., 2021).

Segundo a OPAS E OMS (2019), nas Américas, os agentes estão distribuídos em 18 países, sendo a forma cutânea, a mais comum nos humanos (Leishmaniose Cutânea). A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é considerada uma zoonose de distribuição mundial causada por uma variedade de espécies do gênero *Leishmania*. No Brasil, 10 espécies já foram encontradas e dessas, sete apresentam potencial zoonótico. São elas: *Leishmania brasiliensis*; *Leishmania amazonensis*; *L. guyanensis*; *L. iansonii*; *L. swawi*; *L. naiffii*; *L. infantum*. Apenas três delas infectam exclusivamente animais: *L. enriettii*; *L. deanei*; *L. forattinini*. (BISETTO JÚNIOR et al., 2015). No Brasil os agentes envolvidos na doença da espécie felina são a *L. infantum*, *L. braziliensis* e *L. amazonensis* (GREENE e CRAIG, 2015).

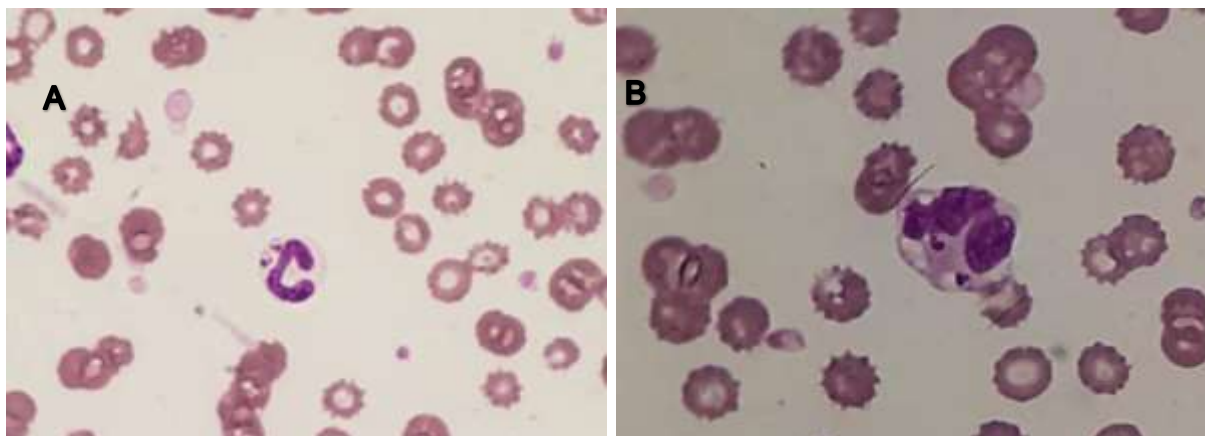
Já a leishmaniose visceral (LV), considerada mais grave pelo seu potencial de fatalidade está distribuída mundialmente em cerca de 76 países, sendo 12 deles na América Latina onde, cerca de 90% dos casos, acontecem no Brasil. Tem como principal agente, nessas regiões, a *Leishmania chagasi* (MOUSTAPHA et al., 2021). Em 2020 o Brasil, que alberga cerca de 90% dos casos de LV, demonstrou uma queda no número de casos de cerca de 27%, o que fez com que a taxa de incidência da doença diminuísse na América segundo o informe Epidemiológico das Américas divulgado pela OPAS e OMS em 2020.

Nos hospedeiros vertebrados os parasitas podem ser encontrados na forma amastigota, localizados em várias células do sistema retículo-endotelial, pele, baço, fígado, medula óssea, linfonodos e mucosas e também podem ser vistos nos leucócitos do sangue (TAYLOR et al., 2017). As amastigotas são estruturas com formato arredondado a ovalados, desprovidas de flagelos e que parasitam o sistema linfomonocitário de seus hospedeiros vertebrados. Nas células infectadas (monócitos, macrófagos e histiócitos), se alojam nos fagossomos, onde se multiplicam e conseqüentemente causam lise celular, dissipando-se assim por via hematogena e linfática para todo o organismo (BASANO e CAMARGO, 2004). As amastigotas são pequenas, medindo aproximadamente de 1,5 - 3,0 por 2,5 - 6,5  $\mu\text{m}$ , possuem um núcleo grande e um cinetoplasto em formato de bastonete (TAYLOR et al., 2017).

Os sinais clínicos da leishmaniose podem ou não estar presentes. Quando presentes, podem refletir alterações nos órgãos afetados, visto que a *Leishmania* pode acometer qualquer órgão, tecido e líquido biológico, desencadeando uma variedade de sintomas que podem consistir em: lesões cutâneas, linfadenomegalia, anorexia, letargia, poliúria, polidipsia, esplenomegalia, lesões oftálmicas, epistaxe, entre outras (GREENE e CRAING, 2015).

O diagnóstico da doença é feito por meio de testes parasitológicos para detecção do parasita em biópsia ou citologia de órgãos/tecidos ou líquidos corporais, isolamento em culturas, testes sorológicos e moleculares (FURTADO et al., 2011). A observação das amastigotas em esfregaços sanguíneos de sangue periférico é considerado um fenômeno raro, porém já foi descrita em monócitos (Figura 23-B) e neutrófilos (Figura 23-A), ou ainda, livres no fundo da lâmina (BABO-TERRA, 2010; SCHNEIDER et al., 2019). Apesar de considerado altamente específico, o exame parasitológico tem baixa sensibilidade, tendo em vista que a presença do agente no

sangue e tecidos irá depender da carga parasitária. Sendo assim, podem ocorrer falsos negativos, caso o animal tenha baixa carga parasitária (FURTADO et al., 2011). Além disso, o exame parasitológico pode ser considerado padrão ouro por ser um teste bastante conclusivo, porém nas amostras de esfregaços sanguíneos não considerado um teste satisfatório devido a detecção das amastigotas em leucócitos ser considerada baixa (menor que 0,5%) (SCHNEIDER et al., 2019).



**Figura 23.** **A**-Neutrófilo bastonete contendo forma amastigota de *Leishmania* spp, em esfregaço sanguíneo de cão, corado em panótico rápido, sob objetiva de 100X. **B**-Monócito contendo forma amastigota de *Leishmania* spp em esfregaço sanguíneo de cão, corado em panótico rápido e sob objetiva de 100X. Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

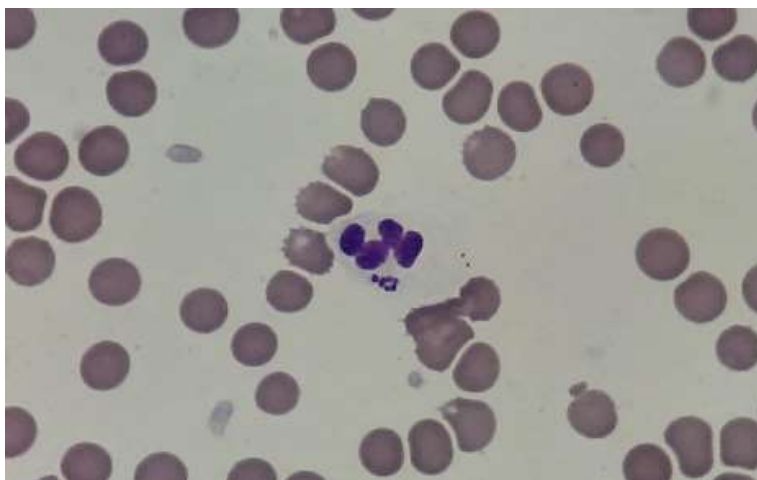
## 8. OUTROS ACHADOS

Outras inclusões intraleucocitárias podem ser encontradas eventualmente, em esfregaços sanguíneos de animais, a exemplo temos: leveduras, fungos e bactérias, remetendo a um processo sistêmico (VALENCIANO e COWELL, 2020).

Apesar da bacteremia ser considerada um evento comum nos animais, raramente as bactérias são visibilizadas devido à quantidade encontrada no esfregaço sanguíneo ser considerada pequena. Além disso é importante diferenciar os casos de contaminação das lâminas de esfregaço *in vitro*. Dessa forma, faz-se necessária a detecção das bactérias dentro dos fagócitos mononucleares e/ou neutrófilos, e a associação com outros meios diagnósticos (HARVEY, 2012).

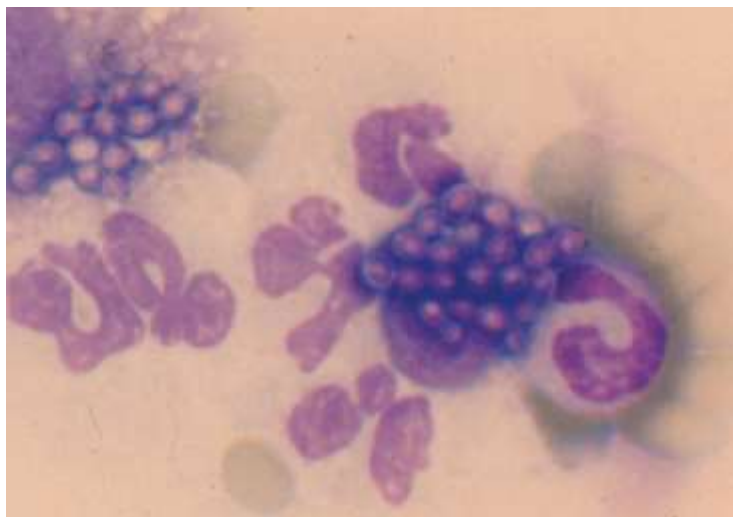
Bactérias diversas em formato de cocos ou bastonetes podem ser raramente detectados no interior dos neutrófilos durante crises de septicemia, devendo sempre ser associado a outros achados laboratoriais para auxiliar no diagnóstico, como a

confirmação por meio de cultura bacteriana, para afastar a possibilidade de se tratar um falso positivo (HARVEY, 2012; WEISS e WARDROP, 2010).



**Figura 24.** Presença de inclusão em neutrófilo sugestiva de cocos bacterianos em esfregaço sanguíneo de felino com suspeita de sepse, corado com panótico rápido e sob objetiva de 100X. Fonte: Arquivo pessoal, 2021.

Além desses agentes infecciosos, fungos também são descritos em esfregaços sanguíneos de animais infectando neutrófilos, monócitos e eosinófilos, remetendo também a uma infecção sistêmica. Tem como principal agente o *Histoplasma capsulatum* (Figura 25), que são morfologicamente redondos, medindo cerca em 2-4  $\mu\text{m}$ . Apresentam núcleo arredondado e roxo e ocorrem individualmente ou não no interior dos leucócitos (WEISS e WARDROP, 2010). Para observação do agente em sangue periférico, pode-se utilizar esfregaço de sangue e da papa leucocitária, e corálos em corantes rotineiros do tipo Romanowsky (Wright e Giemsa) e corantes de fungos tipo ácido periódico de Schiff, Gridley ou metenamina-prata de Gomori. As leveduras desse fungo são arredondadas a ovais e medindo cerca de um quarto a metade do tamanho de uma hemácia (MCVEY et al., 2016). Segundo, Reagan et al., (1998) o *Histoplasma capsulatum* podem aparecer de forma isolada ou em múltiplos microorganismos em neutrófilos e eosinófilos, e morfologicamente são estruturas ovais, sendo corados na cor rosa-púrpura, possuindo um halo ao seu redor e mantendo-se excêntrico ao núcleo no citoplasma.



**Figura 25.** *Histoplasma capsulatum* em monócito de sangue circulante corados com Wright sob objetiva de 1000X. Fonte: Latimer, 2004 ib id Greene e Craig, 2015.

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O hemograma é considerado uma ferramenta diagnóstica de bastante importância na medicina Veterinária. A técnica de esfregaço sanguíneo feita por um profissional devidamente qualificado permite avaliação celular de forma rápida e barata, sendo de extrema importância para avaliação qualitativa das células visto a insuficiência dos métodos automáticos rotineiros utilizados na hematologia. O leucograma pode refletir a presença ou ausência de processos inflamatórios, por meio da avaliação quantitativa e qualitativa dos leucócitos. A avaliação qualitativa possui grande valia, pois é capaz de constatar a presença de inúmeros tipos de inclusões que podem demonstrar de forma definitiva ou presumida a presença de um agente infeccioso causador de uma enfermidade nos animais, ou ainda seus vestígios, gerados por sua passagem no interior dessas células e assim estabelecer diagnósticos e prognósticos que auxiliam e subsidiam o clínico em suas condutas.



## REFERÊNCIAS

- ANTUNES, T.R. et al. Aspectos Hematológicos e Epidemiológicos de cães naturalmente infectados por *hepatozoon sp.* No Município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.9, n.3, p.234-238, 2015.
- BABO-TERRA, V.J; TOLEDO, D.R.; HALVERSON, M.M. Leishmania sp. Amastigotes in the peripheral blood of dogs. *PUBMED*, Londrina, V.4, N.31, Ed.136, art.923, 2010.
- BARBOSA, S.M.V. Mielograma na Clínica de Pequenos Animais: Revisão de Literatura. (Trabalho de Conclusão de Residência em Área Profissional da Saúde em Medicina Veterinária com Ênfase em Patologia Clínica Veterinária)- Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2018.
- BASANO, S.A.; CAMARGO, L.M.A. Leishmaniose Tegumentar Americana. *Rev. Bras. Epidemiol.* Vol. 7, nº 3, 2004.
- BERNADINO, M. G. S. et al . Prevalência de hepatozoonose canina no município de Areia, Paraíba, Brasil. *Biotemas*, 29 (1): 175-179, março de 2016.
- BORIN, S.; CRIVELENTI, L.Z.; FERREIRA, F.A. Aspectos Epidemiológicos, clínicos e Hematológicos de 221 cães portadores de mórulas de Ehrlichia spp. naturalmente infectados. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* ,v.61,n.3,p.566-571, 2009.
- CASTILHO, M.A.C. et al. Frequency of Lentz Bodies Inclusion in Erythrocytes of Whole Blood and Expanded Buffy Coat Smears. *Acta Scientiae Veterinariae*. 47: 1697.2019.
- COWELL, R.L. et al. Diagnóstico Citológico e Hematologia de Cães e Gatos. 3 ed. São Paulo. Med Vet 2009.
- COWELL, R.L e VALENCIANO, A. C. Cowell and Tyler's Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. 5 ed. ELSEVIER. 556 p. 2020.
- DA CRUZ, H. F. S. B. Hepatozoonose Canina: Relato de Caso.2006. Hayla Fabiane da Silva Barreto da Cruz. 45 – 2019.

DE SÁ, R. et.al. Erliquiose canina: Relato de Caso. Pubvet. V.12, n.6, a118, p.1-6, jun. 2018.

Domoner LC, Antunes JMAP, O'Dwyer LH. Hepatozoonose canina no Brasil: Aspectos da biologia e transmissão. Vet. e Zootec.; 20(2): 193-202. Jun 2013

ECLINPATH, Cornell University. Disponível in:  
<https://eclinpath.com/hematology/infectious-agents/> Acesso em: 05/01/2022.

FALCÃO, B. A. et. al. Ocorrência de reagentes positivos para agentes de anaplasmosse granulocítica por testes Imuno enzimáticos de animais sem sentinelas em Campos de Goytacazes-RJ. Revista científica dá FMC. vol. 9. nº 2. 2014.

FURTADO, M. V.; VIOL, M. A. e BRABO TERRA, V. J. Pesquisas de Amastigotas de Leishmania spp. em linfonodos, medula óssea, baço, pele e sangues de animais naturalmente infectados. PUBVET, Londrina, v. 5. n. 30, Ed. 177, art. 1198, 2011.

GONZÁLEZ, F.H.D. E SILVA S.C. Patologia Clínica Veterinária: Texto Introdutório- (Texto de apoio ao curso de Especialização em análises clínicas Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Faculdade de Veterinária. Porto Alegre, 2008.

GUEDES, P.E.B.; et al. Canine ehrlichiosis: prevalence and epidemiology in northeast Brazil. Braz.j. Vet. Parasitol, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 115-121, abr-jun. 2015.

GREENE, CRAING E. Doenças infecciosas em cães e gato. 4 Ed. Rio de Janeiro Guanabaran Koogan, 2015.

HARVEY, J.W. Veterinary hematology: a diagnostic guide and color atlas . Elsevier. St. Louis, Missouri, 2012.

HONÓRIO, T.G. A. F. et.al. Infecção por *Hepatozoon sp* em canino doméstico: Relato de caso. v.11, n.3, p.272-275, Mar, 2017.

JERICÓ, M.M.; ANDRADE-NETO, J.P.; KOGIKA, M.M. Tratado de medicina interna de cães e gatos. São Paulo: Roca, 2015.

KRÜGER, B. C.; FERREIRA, A.L.M; DA SILVA, G.R. Leishmaniose Visceral Canina - Relato de caso. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer – Jandaia-GO, V.18n.35; p.127, 2021.

LASTA, C.S. Hepatozoonose Canina. (Monografia para obtenção do certificado de Residência Médica em Patologia Clínica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2008

LEMONS, M. et. al. Erliquiose Canina: uma abordagem geral. CENTRO UNIVERSITÁRIO DE MINEIROS- Unifirmes.2017.

LUCIDI, C.A. E TAKAHIRA, R.K. Uso do estimulante de colônia de granulócitos nas neutropenias em cães e gatos. Ciência Rural, Santa Maria, v.37, n.3, p.915-920, mai-jun, 2007.

MOUSTAPHA, N. A. et. al. Abordagem da Leishmaniose Visceral Canina (LCV) por Médicos veterinários. Vet. e Zootec.; v28:001-012. 2021

NASCIMENTO, D. N.S. Cinomose Canina – Revisão De Literatura. (Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi Árido (UFERSA), como exigência final para obtenção do título de especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais). UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO, 2009.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Medicina interna de pequenos animais. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

MARTINS, D. B.; LOPES, S. T. A.; FRANÇA, R. T. Cinomose Canina- Revisão de Literatura. Acta Veterinaria Brasilica. Santa Maria- RS. .3, n.2,p.68-76, 2009.

MEGID, J.; RIBEIRO, M.G; PAES, A.C. Doenças Infecciosas em Animais se Produção e de Companhia. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

McVey, S.; Kennedy, M. M.; Chengappa, M. Microbiologia veterinária / Scott McVey, ; tradução José Jurandir Fagliari. - 3. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

Organização Pan- Americana de saúde. Leishmanioses: informe Epidemiológico nas Américas. Núm. 9 dezembro de 2020. Washington, D.C.: OPAS; 2020. Disponível em : <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51742>

PADDOCK, C. D. E CHILDS, J. Ehrlichia chaffensis: a prototypical emergindo pathogen. Clinical Microbiology Reviews, p. 37-64, Jan.2003.

PEREIRA, M.L. et.al. Hepatozoonose Canina Associada a Quimioterapia para Linfossarcoma de Sticker em Santa Catarina, Brasil. **Ciência Animal**, v.31, n.1, p.169-175, 2021.

PINTO, A. B. T; JARDIM, M. P. B; ALBERNAZ, A. Anaplasmataceae em gatos (Felis catus) no município de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. P. Pesq. Vet. Bras. 38(6):1137-1150, junho 2018.

PORTELA, V.A.B.; LIMA, T.M.; MAIA, R. C. C. Cinomose canina: revisão de literatura. Medicina Veterinária (UFRPE), Recife, v.11, n.3 (jul-set), p.162-171, 2017.

RASKIN, R.; MEYER, D.J. Citologia clínica de cães e gatos- atlas colorido e guia de interpretação. Rio de Janeiro. Elsevier 2ª ed. 472 p. 2012.

REAGAN, W. J.; DE NICOLA, B.; SANDES, T.G. Hematologia Veterinária- Atlas das especies Domésticas Comunes. HARCOURT BRACE. LTC. 72 pag. Jan, 1998.

SANTOS, H. A. Diagnóstico da infecção por Anaplasma phagocytophilum (Foggie, 1949) em cães domésticos e carrapatos de áreas urbanas e rurais na microrregião de Itaguacé, Rio de Janeiro. (Tese de Doutor em Ciências no curso de pós-graduação em ciências veterinárias). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, abril, 2011.

SILVA, M.V.M. et. al. Erliquiose Canina: Revisão de Literatura. Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama, v. 14, n.2, p.138-143, jul/dez.2011.

SILVA, G.A. et. al. Parâmetros Hematológicos de Cães Apresentando Corpúsculos de Lentz em Esfregaços Sanguíneos. PUBVET. v.1, n10, p.1022-1027, Out, 2017.

SILVA, N.M. Hematologia Veterinaria- Produção de Material Didático. EDIAEDI-UFPA. 114 pag. 2017.

SILVA, P.H.; HASHIMOTO, Y.; ALVES, H.B. Hematologia Laboratoial. Rio de Janeiro. REVINTER. 466P. 2009.

SOUZA FILHO, G.D. Diagnóstico de Cinomose em Cães Utilizando Testes Imunocromatográficos e Moleculares em Diferentes Amostras Biológicas. (Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2018.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária.2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

SCHNEIDER, M. et al. Presença de Amastigotas de Leishmania sp. Em sangue periférico de cão: Relato de Caso. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer-Goiânia,v.16n.29.;p.1224, 2019.

TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. Parasitologia Veterinária.-4.ed.- Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

TRINCHEIRAS, J. et al. Anaplasma phagocytophilum: Repercussão da infecção da fauna Silvestre em cães e gatos de uma zona endêmica. Revista Lusófona de ciência e Medicina Veterinária. 10: 40-48. 2019.

THRALL, M. A.; et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

URQUHAT, G.M. et al. Parasitologia Veterinária. – 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

VADEN, S.L. et al. Exames laboratoriais e procedimentos diagnósticos em cães e gatos. 1 ed. ROCA, São Paulo, 1200 p. 2013.

VEIGA, C.C.P. et al. Mucopolissacaridose em um cão: relato de Caso. Brazilian Journal of Veterinary medicine , 39 (4)), 284-291. 2017.

VIEIRA, V.P.C.; FIGUEIREDO, N.M. Leishmaniose Visceral Canina: Breve Revisão e Relatos de Caso. *Vet e Zootec.* v28: 001-012. 2021.

ZANANI, N.S. Estudo da ocorrência da infecção por *Hepatozoon* sp. De gatos domésticos de Brasília e regiões urbanas. (Dissertação de Mestrado (M)) – Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 46p. 2015.

WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. *Schalm's veterinary hematology*. 6. ed., Wiley-Blackwell, 1232 p. 2010.