



JÚLIA ISNARD MOULIN GOMES

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NO
LABORATÓRIO CITOLABVET, EM RIBEIRÃO PRETO – SP,
E NO LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE
MESQUITA FILHO, EM BOTUCATU – SP**

LAVRAS – MG

2023

JÚLIA ISNARD MOULIN GOMES

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NO LABORATÓRIO CITOLABVET,
EM RIBEIRÃO PRETO – SP, E NO LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO, EM
BOTUCATU – SP**

Relatório de estágio supervisionado apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do curso de Medicina Veterinária para
obtenção do título de Bacharel

Profa. Dra. Priscilla Rochele Barrios Chalfun

Orientadora

LAVRAS – MG

2023

JÚLIA ISNARD MOULIN GOMES

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NO LABORATÓRIO CITOLABVET,
EM RIBEIRÃO PRETO – SP, E NO LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO, EM
BOTUCATU – SP**

**SUPERVISED INTERNSHIP PERFORMED IN CITOLABVET LABORATORY, IN
RIBEIRÃO PRETO – SP, AND IN LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO OF
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO, IN
BOTUCATU – SP**

Relatório de estágio supervisionado apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do curso de Medicina Veterinária para
obtenção do título de Bacharel

APROVADA em 12 de julho de 2023.

Dra. Priscilla Rochele Barrios Chalfun

Dr. Francisco Duque de Mesquita Neto

M.V. Joana Diniz da Silveira

M.V. Blenda Araújo Martins Ferreira

Profa. Dra. Priscilla Rochele Barrios Chalfun

Orientadora

LAVRAS – MG

2023

À minha família e aos meus amigos, por serem meus maiores incentivadores e encherem minha vida de luz mesmo quando tudo parecia irremediavelmente nebuloso. Aos animais, que me ajudaram a encontrar minha vocação.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Raquel e Jerônimo, por me mostrarem desde cedo a importância da educação e serem exemplos de dedicação; em especial à minha mãe que sempre me deu o apoio para seguir meus sonhos e planos. Ao meu irmão Daniel, que é meu melhor amigo há 23 anos e, desde então, mostra diariamente que a vida pode ser mais leve e bem-humorada. À minha família, que sempre acreditou em mim mesmo em momentos em que eu não encontrava fé em mim mesma. Aos meus animais de estimação Molly, Shere Khan, Fred, Chucky, Bebê, Pingo, Kiara e aos que infelizmente nos deixaram, em especial minha eterna Tininha, por me ensinarem a empatia e o amor incondicional, e me motivarem todos os dias a ser a melhor Médica Veterinária que posso ser.

A todos os meus amigos, estando longe ou perto, por serem minha segunda família. À turma 18/1 por ter compartilhado todos os momentos e me proporcionado grandes amigos. À minha equipe Lolo: Núbia, Gabi, Zink, Blenda e Rhuan, e aos queridos Victor, Vinícius, Luana e Serena, por serem os melhores amigos que o destino me enviou, não imagino minha vida sem vocês. Obrigada por terem curado meu coração e estarem sempre comigo.

À Universidade Federal de Lavras, por ter me proporcionado momentos inesquecíveis, e a todos meus professores que me moldaram como pessoa e profissional, em especial ao professor Murgas pelas oportunidades, ao Chico pelo conhecimento imensurável e à Priscilla, minha orientadora, por tanto carinho e paciência.

À Atlético Cachorrera da UFLA, por ter me abraçado e trazido pessoas e experiências para a minha vida que me transformaram para sempre.

Ao Núcleo de Estudos em Medicina Veterinária do Coletivo e ao Grupo de Estudos em Anatomia Comparada, que contribuíram imensamente para meu crescimento profissional.

Ao Setor de Patologia Clínica da UFLA, que acendeu minha paixão pela área e me ajudou a definir meu futuro, às residentes Blendinha, Aninha, Taize e Joana que me ensinaram e incentivaram tanto, além de serem amigas queridas que me ajudaram a amadurecer dentro do laboratório e me proporcionaram muitas risadas nos meus estágios.

À equipe do CitolabVet e do LCV, por terem me acolhido e me proporcionado as melhores experiências de estágio possíveis. A todos os residentes do LCV pelo carinho e amizades incríveis. À Gisele e professores Regina e Paulo pela oportunidade e conhecimento.

Aos membros da banca, por aceitarem o convite e fazerem parte do encerramento desse ciclo tão importante. A todos que fizeram parte dessa jornada, minha imensa gratidão!

Se enxerguei mais longe, foi porque me apoiei sobre ombros de gigantes.

- Isaac Newton

RESUMO

Este trabalho tem objetivo de relatar os estágios supervisionados realizados no Laboratório CitolabVet, em Ribeirão Preto – SP, e no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), em Botucatu – SP; bem como realizar uma revisão de literatura acerca da aplicação do mielograma para o diagnóstico das hemoparasitoses. Durante o período de estágio foram acompanhados exames de hemograma e hematologia, bioquímicos, testes de coagulação, teste de compatibilidade sanguínea, análise de líquido e líquidos cavitários, tripsina fecal, coproparasitológicos, urinálise, mioglobina urinária, análise de líquido ruminal, punção biópsia aspirativa (PBA), citologia de pele e ouvido, e mielograma; havendo casuísticas distintas de cada tipo de exame e algumas diferenças em metodologias entre os dois laboratórios. Na revisão de literatura são abordados uma breve revisão da hematopoiese, apresentação de conceitos básicos para a realização do exame, indicações para o mielograma e como esse exame é útil para diagnóstico e prognóstico de hemoparasitoses, especialmente em cães e gatos. O mielograma é um exame de grande demanda de tempo e conhecimento técnico para sua realização, que apresenta alta especificidade e uma sensibilidade maior do que a análise do sangue periférico; porém ainda é uma técnica diagnóstica pouco escolhida, seja por falta de capacitação profissional ou por abordagem rasa durante a formação do médico veterinário.

Palavras-chave: Mielograma. Hemoparasitose. Diagnóstico. Patologia Clínica Veterinária.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Fachada do CitolabVet – Diagnósticos Veterinários, Ribeirão Preto – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.15
- Figura 2 – Mapa da região metropolitana de Ribeirão Preto – SP.15
- Figura 3 – Sala de espera do laboratório CitolabVet, Ribeirão Preto – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.17
- Figura 4 – Sala de coleta de exames do laboratório CitolabVet, Ribeirão Preto – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.17
- Figura 5 – Bancada com equipamentos e materiais para análises laboratoriais e pia do laboratório CitolabVet, Ribeirão Preto – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.18
- Figura 6 – Bancadas com equipamentos para análises laboratoriais, bancada para microscopia e pia do laboratório CitolabVet, Ribeirão Preto – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.18
- Figura 7 – Fachada do Laboratório Clínico Veterinário – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.24
- Figura 8 – Mapa da microrregião de Botucatu – SP.25
- Figura 9 – Bancada para confecção de lâminas e hematimetria do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.26
- Figura 10 – Bancada para análises de lâminas de hematologia do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.26
- Figura 11 – Bancada para análise de derrames cavitários, líquido ruminal e urinálise do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.27

Figura 12 – Bancada para centrifugação de capilares do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	27
Figura 13 – Bancada para análise de lâminas e citocentrifugação do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	28
Figura 14 – Máquina de hematologia Celltac Alpha® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	29
Figura 15 – Máquina de hematologia Hemacounter 60® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	29
Figura 16 – Máquina de hematologia Vetscan HM5® do LCV- UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	30
Figura 17 – Máquina de hemogasometria ABL80 Flex Basic® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	31
Figura 18 – Analisador bioquímico Mindray BS 200-E® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	31
Figura 19 – Analisador bioquímico Cobas® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	33
Figura 20 – Analisador bioquímico BIOPLUS-200® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	33
Figura 21 – Ilustração dos principais componentes celulares da medula óssea e sua distribuição no tecido medular.	39
Figura 22 – Resumo esquemático da hematopoiese, evidenciando os principais estágios de maturação das células sanguíneas.	40

Figura 23 – Medula óssea normocelular, técnica histopatológica de hematoxilina-eosina observada em aumento de 10x.	43
Figura 24 – Precursores eritroides em diferentes estágios de maturação, sendo possível identificar rubriblasto (seta preta), rubrícito (seta vermelha) e metarrubrícito (seta verde), em <i>squash</i> de medula óssea de cão corado em técnica de Wright-Giemsa, observado em aumento de 100x.	45
Figura 25 – Precursores mieloides em diferentes estágios de maturação, sendo possível identificar mieloblastos (seta preta), mielócitos (seta vermelha), metamielócitos (seta verde), bastonetes (seta branca), segmentados (seta amarela), em <i>squash</i> de medula óssea de cão corado em técnica de Wright-Giemsa, observado em aumento de 100x.	46
Figura 26 – Megacariócito maduro, <i>squash</i> de medula óssea de cão corado em técnica de Wright-Giemsa, observado em aumento de 40x.	46
Figura 27 – Presença intensa de formas amastigotas de <i>Leishmania</i> sp. em macrófagos da medula óssea, <i>squash</i> de medula óssea de cão corado em técnica de Wright, observado em aumento de 100x (A) e 40x (B).	49
Figura 28 – Medula óssea hipocelular, <i>squash</i> de medula óssea de cão corado em técnica de Wright observado no aumento de 10x.	50

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Recipientes de coleta e exames correspondentes para solicitação no laboratório CitolabVet, Ribeirão Preto – SP.	21
Quadro 2 – Recipientes de coleta e exames correspondentes para solicitação no LCV - UNESP, Botucatu – SP.	35
Tabela 1 – Levantamento dos exames realizados no laboratório CitolabVet, em Ribeirão Preto - SP, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.	22
Tabela 2 – Levantamento das espécies correspondentes das amostras recebidas no laboratório CitolabVet, em Ribeirão Preto - SP, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.	22
Tabela 3 – Levantamento dos exames realizados no LCV – UNESP, em Botucatu – SP, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	36
Tabela 4 – Levantamento das espécies correspondentes às amostras recebidas no LCV – UNESP, em Botucatu – SP, no período de 01 a 31 de maio de 2023.	37
Tabela 5 – Valores de referência para contagem diferencial de células da medula óssea em algumas espécies domésticas.	47
Tabela 6 – Algumas espécies de hemoparasitos de cães e gatos de maior relevância na América do Sul.	49

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Graus Celsius
µL	Microlitros
ALT	Alanina aminotransferase
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
HV/UNESP	Hospital Veterinário – UNESP
LCV	Laboratório Clínico Veterinário
M:E	Relação mieloide:eritroide
mL	Mililitros
NK	Células <i>natural killer</i>
PBA	Punção Biópsia Aspirativa
RPM	Rotações por minuto
SDMA	Dimetilarginina simétrica
SP	São Paulo
sp.	Espécie
TCC	Trabalho de Conclusão de Curso
TP	Tempo de Protrombina
TTPA	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada
UNESP	Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
UPC	Relação proteína-creatinina urinária

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. LABORATÓRIO CITOLABVET	14
2.1. Descrição do local	14
2.2. Instalações e equipamentos	16
2.3. Atividades desenvolvidas	19
2.4. Casuística	21
3. LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO – UNESP	23
3.1. Descrição do local	23
3.2. Instalações e equipamentos	25
3.3. Atividades desenvolvidas	32
3.4. Casuística	36
4. MIELOGRAMA E SUA APLICAÇÃO NAS HEMOPARASITOSE	38
4.1. Medula óssea e hematopoiese	38
4.2. Indicações do mielograma e coleta	40
4.3. Mielograma	42
4.4. Aplicação do mielograma em hemoparasitoses	47
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
6. REFERÊNCIAS	51

1. INTRODUÇÃO

O estágio supervisionado, abrangido pela disciplina PRG107, tem como objetivo possibilitar ao discente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA) a vivência prática em sua área de interesse, a fim de aplicar e aprimorar os conhecimentos técnicos científicos adquiridos ao longo da graduação. A disciplina é ministrada no décimo período do curso, após o cumprimento obrigatório de todos os componentes curriculares, e inclui 408 horas práticas, referentes ao estágio supervisionado, e 68 horas teóricas para a elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC).

Com a finalidade de acompanhar uma maior diversidade de experiências profissionais, foram escolhidas duas instituições distintas, sendo uma pública e a outra privada. A primeira parte do estágio foi realizada no laboratório CitolabVet, especializado em análises clínicas veterinárias e situado na cidade de Ribeirão Preto – SP; no período de 20 de março de 2023 a 28 de abril de 2023 e sob supervisão da M.V. Gisele Nassif Conti. A segunda parte foi realizada no Laboratório Clínico Veterinário (LCV) da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), localizado na cidade de Botucatu – SP; durante o período de 01 de maio de 2023 a 31 de maio de 2023, sob supervisão da profa. Dra. Regina Kiomi Takahira. As atividades em ambos os estágios foram orientadas pela profa. Dra. Priscilla Rochele Barrios Chalfun.

Em ambos os locais foram acompanhadas as respectivas rotinas laboratoriais, havendo algumas diferenças de atividades realizadas de acordo com a casuística e exames oferecidos pelos laboratórios. As atividades, em geral, consistiam em conferir e receber amostras acompanhadas de suas devidas requisições, processamento inicial de amostras para hemograma, exames bioquímicos, urinálise, teste de compatibilidade sanguínea, análises de derrames cavitários, análise de líquido e mielograma; acompanhamento e discussão de laudos, e organização geral do laboratório.

Este trabalho tem como objetivo relatar as casuísticas e atividades desenvolvidas nos laboratórios CitolabVet e LCV da UNESP durante o período de estágio, e realizar uma revisão de literatura sobre mielograma e sua importância para o diagnóstico das hemoparasitoses em cães e gatos.

2. LABORATÓRIO CITOLABVET

2.1. Descrição do local

O CitolabVet é um laboratório particular de patologia clínica veterinária, situado na Rua Nélio Guimarães, número 1445, no Bairro Jardim Irajá, em Ribeirão Preto – SP (FIGURA 1). O laboratório oferece exames hematológicos (hemograma e contagem de reticulócitos), bioquímica, urinálise, coproparasitologia, testes rápidos variados, citologia, mielograma, e possui parceria com outros laboratórios como TECSA, Hermes Pardini e VETPAT (para encaminhamento de exames histopatológicos) para a realização de exames microbiológicos, dosagens hormonais, sorologias específicas (por exemplo, sorologias para hemoparasitoses), biologia molecular e dosagens de vitaminas.

A equipe laboratorial é composta por uma veterinária, uma auxiliar capacitada em enfermagem veterinária, uma recepcionista, uma motogirl e apenas um estagiário. Os médicos veterinários da região metropolitana de Ribeirão Preto (FIGURA 2) são atendidos através da solicitação de recolhimento das amostras ou do agendamento de coletas no próprio laboratório via *Whatsapp*® ou telefone. As coletas no local são realizadas de 7h30min às 12h30min e as amostras externas recebidas até 17h30min, para que seja possível fazer os processamentos das amostras até 18h, especialmente de amostras que necessitam de análise mais imediata possível para resultado fidedigno. O banco de sangue é de responsabilidade de uma médica veterinária não vinculada diretamente com o laboratório, apenas tendo parceria para controle de qualidade das amostras hematológicas dos possíveis doadores e testes de compatibilidade com as bolsas de sangue.

O controle de qualidade interno, realizado diariamente pela manhã, inclui a análise de amostras controle nos equipamentos de hematologia e bioquímico, verificação do nível de reagentes e calibragem adequada das máquinas. O controle de qualidade externo é feito esporadicamente de acordo com a especificação determinada pelo fabricante de cada equipamento ou quando é identificada a necessidade de manutenção devido a irregularidades nos resultados.

A médica veterinária responsável pelo laboratório promove atividades de ensino, através de cursos teóricos e práticos sobre variados temas, incluindo aulas multidisciplinares com profissionais de outras áreas de especialização. Além disso, também contribui com a

formação profissional de alunos de Medicina Veterinária por proporcionar estágios curriculares obrigatórios e voluntários.

Figura 1 – Fachada do CitolabVet – Diagnósticos Veterinários, Ribeirão Preto – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 2 – Mapa da região metropolitana de Ribeirão Preto – SP.



Fonte: Emplasa – UDI (2016).

2.2. Instalações e equipamentos

O laboratório CitolabVet dispõe de uma recepção com sala de espera, sala de espera específica para felinos (FIGURA 3), sala de coleta de exames (FIGURA 4), copa para uso exclusivo dos funcionários, e laboratório equipado com bancadas contendo um homogeneizador de sangue, um analisador automático de hematologia poch-100iv Diff Sysmex®, um analisador bioquímico automático Labtest Audimax Evolution®, um analisador automático de íons básicos Prevtch®, uma centrífuga 4.000 rpm Fanem®, material para confecção de esfregaços sanguíneos, tubos de ensaio, fitas de urinálise, refratômetro e pipetas automáticas (FIGURA 5). Também há no laboratório uma pia para processamento de exames coproparasitológicos e tripsina fecal, preparação de lâminas e limpeza de materiais, além de conter corantes Panótico Rápido® e GRAM®, um banho-maria e um purificador de água por osmose reversa.

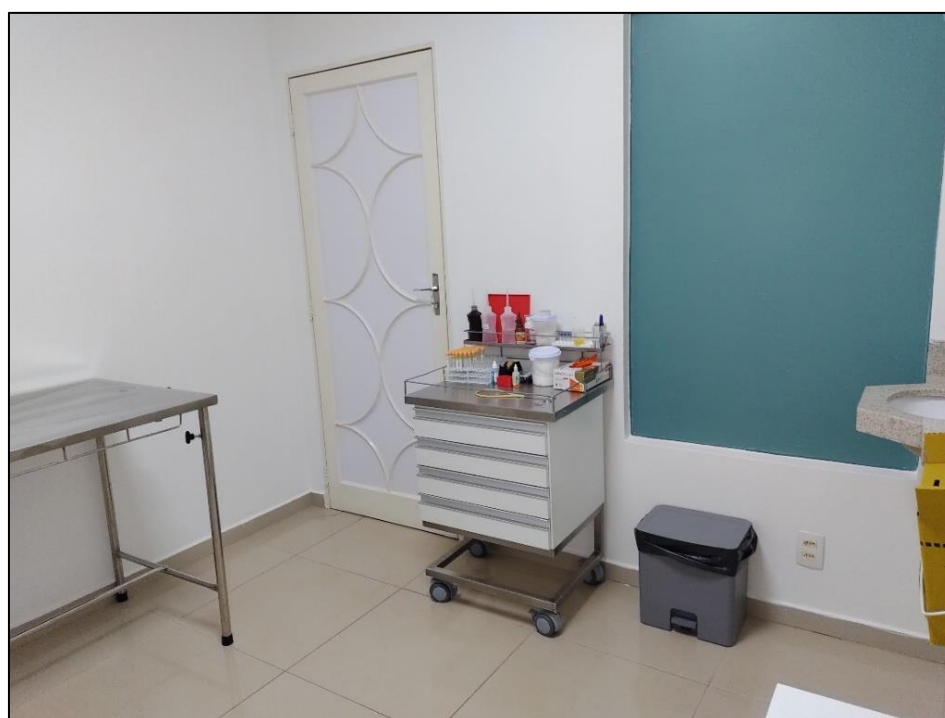
No laboratório, há outra bancada em que são feitas as análises microscópicas e emissão de laudos, que consta com um microscópio, um computador e uma televisão para transmissão das imagens do microscópio. Há também uma geladeira para armazenamento de material biológico e reagentes que necessitam de refrigeração, um armário para estocagem de ponteiras, porta-lâminas, caixas de lâminas e reagentes, lixo Descarpack® para descarte de material biológico. Além de ter uma pequena bancada separada que contém uma balança de precisão e uma microcentrífuga KASVI® (FIGURA 6).

Figura 3 – Sala de espera do laboratório CitolabVet, Ribeirão Preto – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 4 – Sala de coleta de exames do laboratório CitolabVet, Ribeirão Preto – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 5 – Bancada com equipamentos e materiais para análises laboratoriais e pia do laboratório CitolabVet, Ribeirão Preto – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 6 – Bancadas com equipamentos para análises laboratoriais, bancada para microscopia e pia do laboratório CitolabVet, Ribeirão Preto – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

2.3. Atividades desenvolvidas

Durante o período de estágio no laboratório CitolabVet, acompanhou-se a rotina laboratorial que consistia em receber as amostras já cadastradas no sistema pela recepcionista, conferir o número de cadastro da requisição e a respectiva amostra, destinação das amostras para as devidas áreas de processamento de acordo com o exame, processamento inicial de exames hematológicos, bioquímicos, urinálise e parasitológico; e coloração de lâminas.

Todas as manhãs, previamente ao processamento de qualquer amostra, era feito o controle interno dos equipamentos de hematologia, bioquímica e análise de íons, através dos controles próprios de cada fabricante. Também era feito a conferência dos níveis dos reagentes, esvaziamento dos recipientes de descarte dos equipamentos e reposição dos materiais das áreas de processamento como pipetas, lâminas e tubos de ensaio.

Todas as amostras passavam por uma avaliação visual inicial a fim de verificar se as amostras foram enviadas em recipientes adequados para o exame solicitado (QUADRO 1), para verificar a integridade dos recipientes e identificar corretamente as amostras e a presença de coágulos ou fibrina em amostras para hemograma. Em caso de qualquer divergência de informações ou comprometimento das amostras, o veterinário requisitante era contatado para esclarecimento e, quando necessário, solicitado uma coleta.

Exames de urgência tinham prioridade no processamento, porém em situações de rotina normal os hemogramas e exames bioquímicos eram processados anteriormente aos demais exames. Exames histopatológicos, microbiológicos, hormonais e de biologia molecular eram encaminhados para os devidos laboratórios parceiros.

Amostras de sangue para hemograma eram imediatamente encaminhadas para o homogeneizador, logo após era confeccionado o esfregaço sanguíneo e separado 100µL de sangue em um tubo de ensaio para serem analisados no analisador de hematologia, sendo ambos devidamente identificados com nome do animal e do veterinário requisitante. Os resultados hematológicos eram impressos e anexados à requisição. O restante da amostra sanguínea era centrifugada na centrífuga comum para análise de proteína pelo refratômetro e visualização de possíveis alterações na coloração do plasma. O hematócrito era estimado a partir do tubo centrifugado, sem conferência por microhematócrito em capilar.

Os esfregaços eram corados com Panótico Rápido® e posicionados verticalmente para secar. Após secos eram levados para a bancada de microscopia para avaliação morfológica das células sanguíneas, pesquisa de hematozoários, contagem diferencial de leucócitos e, caso

necessário, de plaquetas. Para a contagem de reticulócitos, quando solicitada, era feita a diluição de sangue em Azul Cresil Brilhante na proporção de 1:1; essa solução era levada ao banho-maria a 36°C por 15 minutos e depois utilizada para fazer um esfregaço em lâmina. A contracoloração com o Panótico Rápido® era feita para otimizar a visualização dos reticulócitos.

Para os exames bioquímicos, o sangue era centrifugado a 2800 rpm por 5 minutos e 300µL de soro eram pipetados em recipientes separados. As amostras eram cadastradas no analisador bioquímico Mindray BS-200® com o número da requisição e as análises solicitadas, e, após finalizado, os resultados eram anotados na própria requisição. Para a análise de íons séricos também é necessário a separação do soro. Em casos de resultados muito alterados, fazia-se a repetição da análise ou diluições (feitas pelo próprio equipamento).

A urinálise se iniciava pela avaliação física, através da análise do volume, cor, odor, aspecto (turbidez) e densidade, sendo seguida da avaliação química pela fita reagente. A amostra era então centrifugada a 1200 rpm por 5 minutos. Logo após era separado o sobrenadante para a análise da relação proteína-creatinina urinária (UPC) no equipamento para exames bioquímicos. O sedimento urinário restante era homogeneizado e utilizado para a confecção de lâmina para avaliação na microscopia óptica.

As amostras de fezes eram destinadas para o coproparasitológico por método direto e, mais frequentemente, para um método de sedimentação e centrífugo-flutuação (Faust) adaptados. Aproximadamente 2,0g de fezes eram diluídas em 20mL de água destilada, em um tubo tipo Falcon®. Deve-se então centrifugar o tubo a 1200 rpm por 5 minutos; e em seguida fazer uma lâmina com a porção mais superficial do sobrenadante que era desprezado logo em seguida. O conteúdo restante era diluído em 20mL de água destilada e centrifugado novamente, sendo feita a confecção de uma nova lâmina de material mais próximo ao conteúdo sólido. O lugol era utilizado para facilitar a visualização de alguns ovos e oocistos nas lâminas da microscopia óptica.

As lâminas de raspado de pele eram primeiramente observadas na microscopia óptica para pesquisa de ácaros e posteriormente coradas em Panótico Rápido® e coloração de Gram® para pesquisa de fungos e bactérias. Citologias de ouvido eram, na maioria dos casos, coletadas juntamente ao raspado de pele e passavam por coloração de Gram. Demais citologias eram coradas em Panótico para avaliação microscópica.

Exames especiais como tripsina fecal, compatibilidade sanguínea, aglutinação em salina e testes rápidos eram processados pela auxiliar do laboratório. As análises de líquido e

de líquidos cavitários eram processadas e analisadas exclusivamente pela veterinária responsável.

Quadro 1 – Recipientes de coleta e exames correspondentes para solicitação no laboratório CitolabVet, Ribeirão Preto – SP.

Recipiente	Reagente	Exame
Tubo Roxo	EDTA	Hemograma, bioquímicos específicos (Creatinina, ALT e Ureia), líquidos cavitários/efusões (avaliação citológica) e testes rápidos
Tubo Vermelho	Sem anticoagulante (seco) ou com ativador de coágulo	Bioquímicos, testes rápidos e líquidos cavitários/efusões (avaliação físico-química e testes bioquímicos, como creatinina), dosagens de íons, dosagens hormonais
Tubo Amarelo	Sem anticoagulante ou com ativador de coágulo + Gel separador	Bioquímicos e testes rápidos
Tubo Cinza	EDTA + Fluoreto de sódio	Glicose sérica e frutossamina
Coletor universal / Seringa	Sem reagentes	Urinalise
Coletor universal	Sem reagentes	Coproparasitológicos e tripsina fecal

Fonte: Da autora (2023).

2.4. Casuística

Durante o período de estágio foram realizados, no total, 1094 exames. Devido ao perfil altamente variável de combinações de exames bioquímicos, foi considerado como bioquímica qualquer exame que solicitasse pelo menos um dos exames oferecidos. Dentre os exames, o hemograma em conjunto ao bioquímico foram os mais requisitados dentro do referido período de tempo (TABELA 1).

A quantidade de requisições por espécie, observada na Tabela 2, demonstra que cães foram os maiores representantes das amostras recebidas, seguidos dos felinos, equinos, aves e muars. Não foram recebidas amostras de ruminantes ou de animais selvagens.

Tabela 1 – Levantamento dos exames realizados no laboratório CitolabVet, em Ribeirão Preto - SP, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.

EXAMES	QUANTIDADE REALIZADA	
	Absoluta	Porcentagem (%)
Hemograma + Bioquímica	379	34,64
Hemograma	245	22,39
Punção Biópsia Aspirativa (PBA)	111	10,15
Bioquímica Sérica	86	7,86
Citologia de Pele e Ouvidos	69	6,31
Análise de Íons	67	6,12
Coproparasitológico	52	4,75
Urinálise	50	4,60
Compatibilidade Sanguínea	21	1,91
Análise de Líquidos Cavitários	9	0,82
Tripsina Fecal	4	0,36
Análise de Líquor	1	0,09
Total	1094	100

Fonte: Da autora (2023).

Tabela 2 – Levantamento das espécies correspondentes das amostras recebidas no laboratório CitolabVet, em Ribeirão Preto - SP, no período de 20 de março a 28 de abril de 2023.

ESPÉCIES	QUANTIDADE DE REQUISIÇÕES	
	Absoluta	Relativa (%)
Canina	788	83,83
Felina	100	10,64

Equina	43	4,57
Aves	8	0,85
Muar	1	0,11
Total	940	100

Fonte: Da autora (2023).

3. LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO – UNESP

3.1. Descrição do local

O Laboratório Clínico Veterinário (LCV) (FIGURA 7) é um laboratório situado no Hospital Veterinário, hospital-escola que funciona com Unidade Auxiliar de Estrutura Complexa da FMVZ da UNESP, localizado na Rua Prof. Dr. Walter Maurício Correa, s/n – UNESP Campus de Botucatu - SP. Os exames oferecidos pelo LCV incluem hematologia, bioquímica, urinálise, pesquisa de mioglobina urinária, mielograma, tempo de coagulação, TP e TTPa, contagem de reticulócitos, teste de aglutinação em salina, teste de compatibilidade sanguínea, hemogasometria, e análise de líquidos cavitários, de líquido ruminal e de líquor. Também são feitas análises séricas específicas quando solicitado, como fenobarbital, hormônios e SDMA. Além disso, são ofertados os serviços de coleta, processamento e armazenamento de bolsas de sangue pelo Banco de Sangue Canino – UNESP, o qual é mantido sob responsabilidade do LCV e cujas atividades também são divididas entre os residentes e estagiários do laboratório.

O Hospital Veterinário (HV/UNESP) atende amplamente a população da microrregião de Botucatu (FIGURA 8), portanto, as amostras recebidas no laboratório são majoritariamente provenientes de atendimentos internos do hospital e em menor quantidade de encaminhamentos externos de médicos veterinários não vinculados à UNESP. O Banco de Sangue Canino também atende majoritariamente demandas internas do HV/UNESP, mas em casos de grande necessidade, bolsas de sangue são vendidas preço de custo para que outros estabelecimentos veterinários possam fazer a hemoterapia de animais em estado crítico.

Diariamente é feito o controle de qualidade interno, anteriormente à chegada das amostras da manhã. São feitas as análises de amostras controle nos equipamentos de hematologia e bioquímicos, verificação do nível de reagentes e calibragem adequada das máquinas. O controle de qualidade externo varia de acordo com a demanda de manutenção ou

reparo devido à identificação de irregularidades nos resultados ou, caso não haja alterações, em função do tempo determinado pelo fabricante.

Além das atividades internas da rotina do LCV, os professores responsáveis e os residentes do laboratório também promovem esporadicamente, em parceria com outros setores e órgãos da FZMV, atividades de ensino com o intuito de contribuir para a formação de profissionais e alunos da Medicina Veterinária. O estágio voluntário ofertado pela instituição também é uma forma de contribuir para a formação profissional e favorecer o intercâmbio de conhecimento entre variadas instituições de ensino do país e até mesmo do restante da América Latina.

Figura 7 – Fachada do Laboratório Clínico Veterinário – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 8 – Mapa da microrregião de Botucatu – SP.



Fonte: Abreu (2006).

3.2. Instalações e equipamentos

O LCV consta com cinco bancadas destinadas, individualmente, para confecção de lâminas e hematimetria (FIGURA 9), análise de lâminas de hematologia (FIGURA 10), processamento e análise de amostras para urinálise, líquido ruminal e derrames cavitários (FIGURA 11); centrifugação de capilares e leitura de hematócrito e proteína (FIGURA 12); e análises de lâminas variadas e citocentrifugação (FIGURA 13).

Figura 9 – Bancada para confecção de lâminas e hematimetria do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 10 – Bancada para análises de lâminas de hematologia do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 11 – Bancada para análise de derrames cavitários, líquido ruminal e urinálise do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 12 – Bancada para centrifugação de capilares do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 13 – Bancada para análise de lâminas e citocentrifugação do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

A bancada para lâminas e hematimetria consta com um homogeneizador, material necessário confeccionar lâminas, pia, corantes Panótipo Rápido® e Wright-Giemsa®, um analisador automático de hematologia Celltac Alpha Vet/MEK-6550® (FIGURA 14), um analisador automático de hematologia Hemacounter 60 Vet® (FIGURA 15) e um analisador automático de hematologia Vetscan HM5® (FIGURA 16). Na bancada para processamento de capilares estão presentes duas microcentrífugas, lamparinas para fechamento dos capilares por meio do calor, refratômetro, câmaras de Neubauer e diluentes já separados em suas devidas concentrações e quantidades; os diluentes eram solução de Gower, solução de Turk e solução hemolisante, utilizados respectivamente para contagem manual de hemácias, contagem manual de leucócitos e quantificação de hemoglobina. Na bancada adjacente há uma citocentrífuga para confecção de lâminas a partir de amostras com baixa celularidade, além de microscópios para análises de lâminas variadas.

Figura 14 – Máquina de hematologia Celltac Alpha® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 15 – Máquina de hematologia Hemacounter 60® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 16 – Máquina de hematologia Vetscan HM5® do LCV- UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Para análises de urina, líquidos cavitários e líquido ruminal, a respectiva bancada contém tubos tipo Falcon®, tubos de ensaio, Eppendorfs®, pipetas automáticas, fitas de urinálise e pH, reagente azul de metileno, refratômetro, centrífuga e dois microscópios. A bancada de análise de lâminas de hematologia é composta apenas por três microscópios, sendo dois deles de modelos mais antigos utilizados pelos residentes e um mais moderno destinado aos estagiários, e contadores automáticos de células. A máquina de hemogasometria, ABL80 Flex Basic® (FIGURA 17) era mantida em um recinto climatizado separado e as análises bioquímicas eram feitas pelos técnicos do laboratório em uma sala adjacente, sendo utilizado o equipamento automático Mindray BS 200-E® (FIGURA 18).

Figura 17 – Máquina de hemogasometria ABL80 Flex Basic® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 18 – Analisador bioquímico Mindray BS 200-E® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

3.3. Atividades desenvolvidas

A rotina do LCV é dividida em cinco setores com diferentes funções: R1, R2, S1, S2 e Banco de Sangue; em que em cada uma das funções há pelo menos um residente. Apesar da nomenclatura dos setores, as atividades eram revezadas entre residentes independentemente de serem do primeiro ou segundo ano do programa de residência. Os estagiários são divididos em escalas para que todos possam acompanhar cada setor por pelo menos uma semana completa.

As funções no R1 eram a recepção inicial das amostras, verificação da identificação e do tubo correspondente com o exame solicitado (QUADRO 2), e verificação da presença de coágulos e fibrina. Amostras sem identificação ou identificação indevida eram recusadas, amostras coaguladas eram retidas para solicitação de recoleta e amostras com fibrina eram aceitas (exceto para testes de coagulação), porém não havendo liberação do valor de plaquetas. Outra função incumbida ao R1 era vedação e centrifugação de capilares, bem como a leitura de hematócrito e valor de proteína plasmática. A dosagem de fibrinogênio era realizada apenas quando solicitada, sendo necessário levar o capilar centrifugado ao banho-maria a 56°C por 3 minutos e, após, novamente à centrífuga por mais 3 minutos. Casos de urgência e emergência eram informados ao R1 no momento de recebimento da amostra, o qual deveria sinalizar na requisição e para o setor subsequente que a amostra deveria ser processada anteriormente às demais.

O setor R2 é responsável pela hematimetria, realizando funções de análise da amostra nas máquinas hematológicas e posterior registro dos resultados na requisição, confecção de esfregaços sanguíneos, coloração de lâminas em Panótico Rápido® e diluição e contagem manual de células. A análise nas máquinas se iniciava no analisador Celltac Alpha® e, de acordo com alterações observadas pelos setores subsequentes, eram feitas contagens em outras máquinas para conferir a conformidade dos valores. Em caso de incongruências entre os valores obtidos ou situações específicas observadas no S1, eram feitas as diluições para contagem de leucócitos, hemácias e plaquetas na câmara de Neubauer. Se necessário obter dosagem mais precisa de hemoglobina, era feita uma diluição e posterior análise pelos analisadores bioquímicos Cobas Mira Plus CC® (FIGURA 19) ou BIOPLUS-200® (FIGURA 20).

Figura 19 – Analisador bioquímico Cobas® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023).

Figura 20 – Analisador bioquímico BIOPLUS-200® do LCV – UNESP, Botucatu – SP, em que foi realizado o estágio supervisionado, no período de 01 a 31 de maio de 2023.



Fonte: Da autora (2023)

No setor S1 eram feitas as análises microscópicas das lâminas de hematologia, sendo realizadas estimativa de leucócitos, contagem diferencial de leucócitos, estimativa de plaquetas, contagem de plaquetas na câmara de Neubauer, pesquisa de hematozoários e observação de alterações morfológicas das células. Caso houvesse fibrina na amostra de sangue, a contagem de plaquetas na câmara não era realizada devido à interferência da fibrina na obtenção de um valor exato de plaquetas. Nesses casos era feita a estimativa da quantidade de plaquetas apenas para cães, nas demais espécies não eram liberados valores nem estimativas das plaquetas.

O setor S2 era responsável pelas urinálises e demais exames especiais como análises de efusões, líquido e líquido rumenal; contagem de reticulócitos, teste de aglutinação em salina e contagem manual de células sanguíneas de aves. As amostras de urinas passavam por avaliação física, química (através da fita de urinálise veterinária), e pela sedimentoscopia após a centrifugação a 1500 rpm por 5 minutos. Caso fosse solicitado a UPC parte da amostra era separada para ser encaminhada ao bioquímico. Em geral, era necessário enviar no mínimo 5,0mL de urina para ser possível a avaliação quantitativa do sedimento. O teste de mioglobina urinária também exigia 5,0mL obrigatórios para obter um resultado fidedigno através da reação com sulfato de amônia.

Para as efusões, era feita análise física e química, dosagem de proteína, contagem de hemácias e células nucleadas na câmara de Neubauer, confecção de lâminas para avaliação microscópica e contagem diferencial de células, sendo a forma de confecção (*squash* ou citocentrifugação) definida pela alta ou baixa celularidade da amostra. O processamento de amostras de líquido era similar ao das demais efusões, diferindo apenas em confecção direta das lâminas na citocentrífuga e pela realização do teste de Pandy para a identificação de globulinas na amostra.

A análise de líquido ruminal consistia em avaliação física, pH, avaliação microscópica e quantificação de microrganismos, dosagem de cloretos e teste de redução de azul de metileno. Para o teste de redução era necessário 30mL de amostra para resultado mais fidedigno. Todas as amostras recebidas no S2 eram processadas o mais rapidamente possível para que a avaliação das células fosse mais precisa, sendo adicionado nas observações caso a amostra fosse enviada fora do tempo recomendado ou armazenada.

A contagem de reticulócitos era feita a partir da confecção de esfregaço da mistura de sangue e novo azul de metileno na proporção de 1:1 após 15 minutos no banho-maria a 36 °C. O teste de aglutinação em salina consistia na mistura de 1:4 de sangue e solução salina em

uma lâmina, a qual era levada a uma câmara úmida por 15 minutos e analisada posteriormente para identificação de aglutinação. Para as contagens manuais de células de aves, era utilizada a diluição em azul de toluidina e posterior contagem na câmara de Neubauer.

As funções do Banco de Sangue consistiam em administrar o banco como um todo, realizando coletas ou recebendo amostras de possíveis doadores, coleta e processamento de bolsas de sangue; identificação, armazenamento e registro das bolsas; fornecer informações acerca da hemoterapia aos outros setores do HV/UNESP, atualizar os dados de doadores registrados no banco de sangue, entrar em contato com tutores de animais que possam se tornar novos doadores ou possam doar novamente, realizar testes de compatibilidade sanguínea e fazer as análises de hemogasometria da rotina. Por ser um setor com muitas funções burocráticas, não havia um estagiário específico designado na escala semanal, no entanto, o estagiário que estivesse no S2 na escala auxiliava nas atividades do Banco quando necessário.

Ao final do dia, os encarregados de cada setor eram responsáveis por lavar a vidraria utilizada ao longo do dia, descartar materiais não reutilizáveis, repor reagentes, gazes, lâminas e ponteiros; e destinar as amostras para o armazenamento ou descarte correto.

Quadro 2 – Recipientes de coleta e exames correspondentes para solicitação no LCV - UNESP, Botucatu – SP.

Recipiente	Reagente	Exame
Tubo Roxo	EDTA	Hemograma, bioquímicos específicos (Creatinina, ALT e Ureia), líquidos cavitários/efusões (avaliação citológica)
Tubo Vermelho	Sem anticoagulante (seco) ou com ativador de coágulo	Bioquímicos, líquidos cavitários/efusões (avaliações físico-químicas)
Tubo Amarelo	Sem anticoagulante ou com ativador de coágulo + Gel separador	Bioquímicos e testes rápidos
Tubo Cinza	EDTA + Fluoreto de sódio	Glicose sérica e

		frutosamina
Tubo Azul	Citrato de sódio	TP e TTPa
Seringa heparinizada	Heparina lítica	Hemogasometria
Coletor universal / Seringa	Sem reagente	Urinálise
Garrafa térmica	Sem reagente	Análise de líquido ruminal

Fonte: Da autora (2023).

3.4. Casuística

Durante o período de estágio foram acompanhados 1321 exames na rotina (TABELA 3). Os exames bioquímicos não eram acompanhados na rotina dos estagiários, porém foram registradas 6.164 análises bioquímicas no total. Para cada exame era impresso uma requisição individual mesmo que fosse do mesmo animal, exceto para o bioquímico, em que mais de uma análise poderia ser solicitada na mesma requisição.

A quantidade de requisições por espécie pode ser observada na Tabela 4. Houve uma boa variedade de espécies, incluindo espécies de animais selvagens ou *pets* não convencionais, como pequenos primatas, cervídeos, tamanduás, canídeos selvagens e pequenos roedores. Esses animais selvagens, apesar de relativamente frequentes, apresentaram uma baixa prevalência em relação ao total.

Tabela 3 – Levantamento dos exames realizados no LCV – UNESP, em Botucatu – SP, no período de 01 a 31 de maio de 2023.

EXAMES	QUANTIDADE DE EXAMES REALIZADA	
	Absoluta	Relativa (%)
Hemograma	911	68,96
Hemogasometria	219	16,60
Urinálise	90	6,81
Análise de Líquidos	35	2,65
Cavitários		
Contagem de Reticulócitos	23	1,74
Aglutinação em salina	16	1,21
Compatibilidade Sanguínea	11	0,83
Análise de Líquor	5	0,38

Análise de Líquido Ruminar	4	0,30
Mielograma	3	0,22
Tempo de Coagulação	2	0,15
Pesquisa de Mioglobina	2	0,15
Urinária		
Total	1321	100

Fonte: Da autora (2023).

Tabela 4 – Levantamento das espécies correspondentes às amostras recebidas no LCV – UNESP, em Botucatu – SP, no período de 01 a 31 de maio de 2023.

ESPÉCIES	QUANTIDADE DE REQUISIÇÕES	
	Absoluta	Relativa (%)
Canina	1029	77,89
Felina	192	14,53
Equina	30	2,27
Bovina	27	2,04
Caprina	15	1,13
Aves	8	0,60
Coelho	7	0,53
Tamanduá-mirim ¹	4	0,30
Ovina	2	0,15
Suína	1	0,080
Muar	1	0,080
Porquinho-da-Índia	1	0,080
Cachorro-do-mato ²	1	0,080
Macaco-prego ³	1	0,080
Bugio ⁴	1	0,080
Veado-catingueiro ⁵	1	0,080
Total	1321	100

1. *Tamandua tetradactyla*

2. *Cerdocyon thous*

3. *Sapajus* sp.

4. *Alouatta* sp.

5. *Mazama gouazoubira*

Fonte: Da autora (2023).

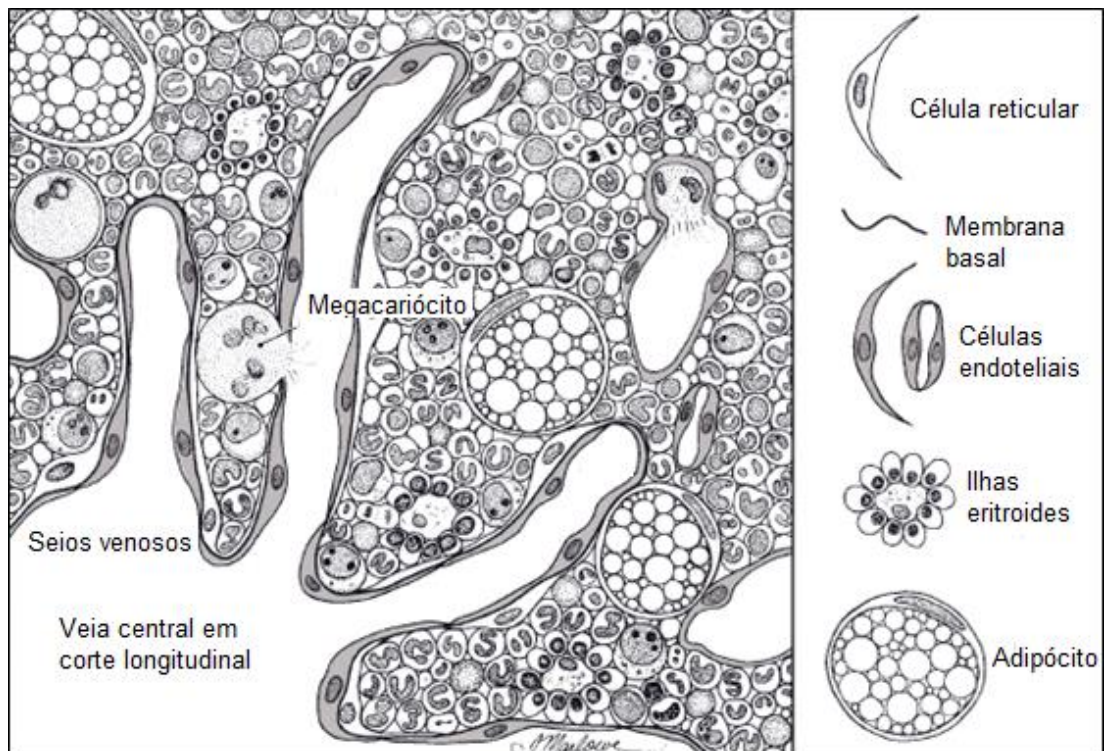
4. MIELOGRAMA E SUA APLICAÇÃO NAS HEMOPARASITOSE

4. 1. Medula óssea e hematopoiese

A medula óssea é um dos órgãos de maior atividade mitótica, sendo responsável pela produção e renovação das células sanguíneas através do processo denominado hematopoiese. Esse órgão está presente na porção trabeculada da medula de ossos do esqueleto axial e ossos longos; e é composto por uma matriz extracelular, células estromais, tecido adiposo e células hematopoiéticas, além de apresentar uma significativa irrigação por capilares sinusoides e inervação. Os componentes além das células hematopoiéticas são responsáveis por favorecer a estrutura da medula óssea e fornecer suporte nutricional e bioquímico para a ocorrência da hematopoiese, tais como colágeno, reticulina, glicoproteínas e glicosaminoglicanas (SCHALM, 2010).

As células hematopoiéticas são divididas em duas linhagens, linfoide e mieloide. A linhagem linfoide origina precursores de linfócitos e a linhagem mieloide origina megacariócitos, precursores eritroides e precursores mieloides (SCHALM, 2010). Dependendo da linhagem, as células tendem a ocupar disposições distintas na medula óssea (FIGURA 21). Precursores eritroides e megacariócitos localizam-se próximos aos seios venosos, enquanto macrófagos livres, linfócitos e granulócitos ocupam áreas próximas a arteríolas e ao endóstio.

Figura 21 – Ilustração dos principais componentes celulares da medula óssea e sua distribuição no tecido medular.



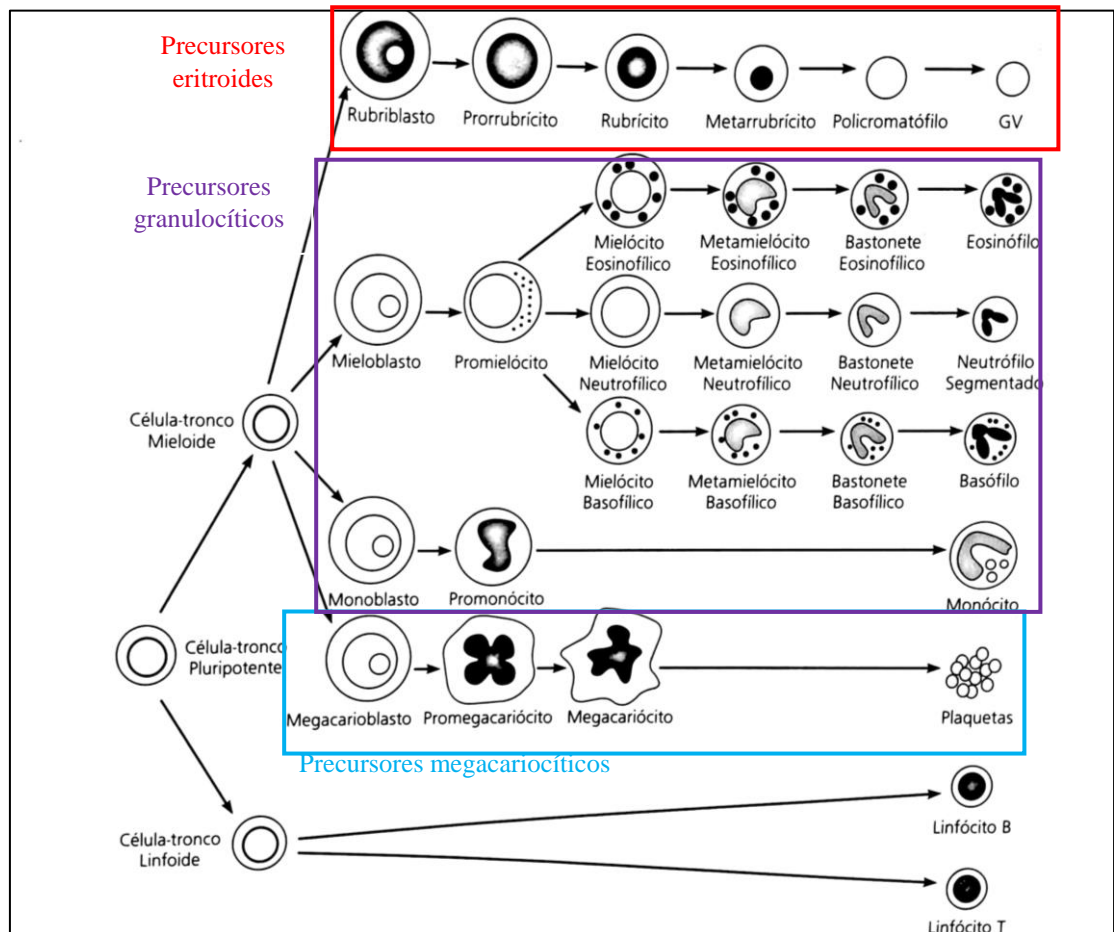
Fonte: Adaptado de Schalm (2010).

A hematopoiese se inicia com células-tronco pluripotentes das quais originam as linhagens mieloide e linfoide, que por uma série de eventos de diferenciação resultam nas três principais frações celulares: hemácias, leucócitos e plaquetas (FIGURA 22). As células da linhagem linfoide originam linfoides, que originam os linfócitos T, linfócitos B e células NK (*natural killer*). A linhagem mieloide gera progenitores eritroide-megacariocíticos, e progenitores de granulócitos e macrófagos (SCHALM, 2010). Os progenitores eritroide-megacariocíticos posteriormente originam eritroblastos e megacarioblastos. Devido à ação da eritropoietina, os eritroblastos se diferenciam sequencialmente em prorrubricito, rubricito, metarrubricito, policromatófilo e eritrócitos maduros. Os megacarioblastos diferenciam-se em promegacariócitos, megacariócitos e, por fim, em plaquetas, favorecido pela ação da trombopoietina. Os eritroblastos normalmente se agrupam em ilhas eritroides ao redor dos macrófagos, que fornecem ferro, nutrientes e fatores hematopoiéticos para a produção de novas células (REAGAN, ROVIRA, DE NICOLA, 2019).

Os progenitores de granulócitos e macrófagos sofrem ação de fatores de crescimento celular e geram precursores de monócitos e precursores de granulócitos, sobre os quais atuam interleucinas e fatores de crescimento que estimulam sua diferenciação (SCHALM, 2010). Os

precursores de monócitos geram monoblastos, promonócitos e, em seguida, monócitos, que são lançados na corrente sanguínea a fim de completar sua maturação em diferentes tecidos, tornando-se macrófagos. Os precursores de granulócitos diferenciam-se, em sequência, em mieloblastos, promielócitos, mielócitos, metamielócitos, bastonetes e leucócitos segmentados maduros (eosinófilos, neutrófilos e basófilos) (REAGAN, ROVIRA, DE NICOLA, 2019).

Figura 22 – Resumo esquemático da hematopoiese, evidenciando os principais estágios de maturação das células sanguíneas.



Fonte: Adaptado de Reagan, Rovira, DeNicola (2011).

4.2. Indicações do mielograma e coleta

O mielograma é o exame citológico da medula óssea, realizado quando alterações clínicas não podem ser explicadas pelas análises hematológicas de rotina (THRALL, 2015). Algumas das principais indicações para o mielograma são citopenias persistentes (especialmente anemias não regenerativas, trombocitopenias, leucopenias e neutropenias sem

desvio à esquerda), inexplicado elevado número de células sanguíneas, morfologia atípica das células sanguíneas, doenças mieloproliferativas e linfoproliferativas, gamopatias, hipercalcemia persistente inexplicada, neoplasias hematopoiéticas, neoplasias medulares e seu estadiamento, e infecções por patógenos que afetam a medula óssea (ALENCAR; KOHAYAGAWA; CAMPOS; TAKAHIRA, 2002). Esse exame é realizado mais frequentemente na clínica de pequenos animais, no entanto, pode ser muito útil para equinos que apresentem anemias não regenerativas visto que essa espécie não libera reticulócitos na corrente sanguínea mesmo em caso de anemias graves (THRALL, 2015).

Em geral, não existem contraindicações relevantes já que o risco de infecção e hemorragias, mesmo em animais com trombocitopenia, em decorrência da coleta é pouco significativo quando o procedimento é realizado de forma correta. O mielograma não deve ser recomendado apenas em casos em que há risco anestésico ou nos quais a realização do exame não se justifica clinicamente, fazendo com que o animal seja submetido desnecessariamente à coleta de medula óssea (SCHALM, 2010).

A coleta de amostra para o mielograma é relativamente de baixo custo, já que não é necessário a anestesia geral para o procedimento, apenas sedação com anestesia local; porém, é um exame trabalhoso que requer conhecimento técnico específico e treinamento para sua realização. Os materiais utilizados também são de fácil acesso, sendo necessário apenas seringas, agulhas especiais (tipo Biermann, Illinois ou Komiyashiki) e lâminas. O local para coleta pode variar em função do tamanho, idade e condição geral do animal, e também de acordo com a preferência e experiência do veterinário que realizará o procedimento. Em pequenos animais opta-se mais comumente pelo úmero (porção craniolateral do tubérculo maior), devido à menor quantidade de músculos e gordura na região, ou pelo ílio (crista ilíaca dorsal), por ser facilmente palpável e acessível. Em gatos e cães de pequeno porte o fêmur (fossa trocântérica) pode ser mais indicado em função do maior tamanho do osso, favorecendo a aspiração de maior quantidade de material (RASKIN, MESSICK, 2012). Para equinos, o esterno é mais indicado devido à musculatura menos pronunciada e à porção cortical das esternébras ser mais delgada do que a dos ossos longos da espécie (BIENZLE, 2020), no entanto, também pode ser um local de coleta indicado para pequenos animais apesar de menos comum.

O procedimento se inicia com a sedação e posicionamento em decúbito lateral do animal; a tricotomia da área não é obrigatória, porém em todos os casos é necessário realizar antisepsia para impedir a contaminação da amostra e inoculação de possíveis patógenos de

forma iatrogênica. O membro ou área da coleta é estabilizada para que seja feita a inserção da agulha, realizando movimentos de rotação para penetrar a cortical do osso, após fixada a agulha no osso o mandril é retirado e acopla-se a seringa previamente preenchida com 0,5mL de EDTA 3%. Ao puxar o êmbolo várias vezes, a aspiração da medula óssea ocorre por pressão negativa até que se obtenha aproximadamente 0,5mL de material. Caso a medula não seja aspirada após a pressão negativa, o mandril deve ser recolocado para reposicionar a agulha até que seja possível coletar material suficiente para diagnóstico (ALENCAR; KOHAYAGAWA; CAMPOS; TAKAHIRA, 2002). Na espécie equina, o procedimento de coleta é o mesmo, porém o animal é mantido em estação e a tricotomia torna-se obrigatória, já que é feita uma pequena incisão na pele para facilitar a penetração e posicionamento da agulha (BIENZLE, 2020).

As lâminas para análise devem ser feitas o mais rapidamente possível para evitar degeneração das células. Para lâminas de medula fresca é importante considerar que a medula coagula muito rapidamente e, portanto, devem ser feitas imediatamente após encerrada a coleta. O material deve ser espalhado em uma placa de Petri, onde as espículas ósseas irão se aderir ao fundo e devem ser separadas do sangue utilizando um capilar. São confeccionadas variadas lâminas (recomendado que seja no mínimo cinco) a partir das espículas utilizando-se técnica de *squash*, que devem ser rapidamente secas e coradas por técnicas de coloração tipo Romanowsky (Wright, Giemsa, Wright-Giemsa, Diff-Quik) (STACY, HARVEY, 2017).

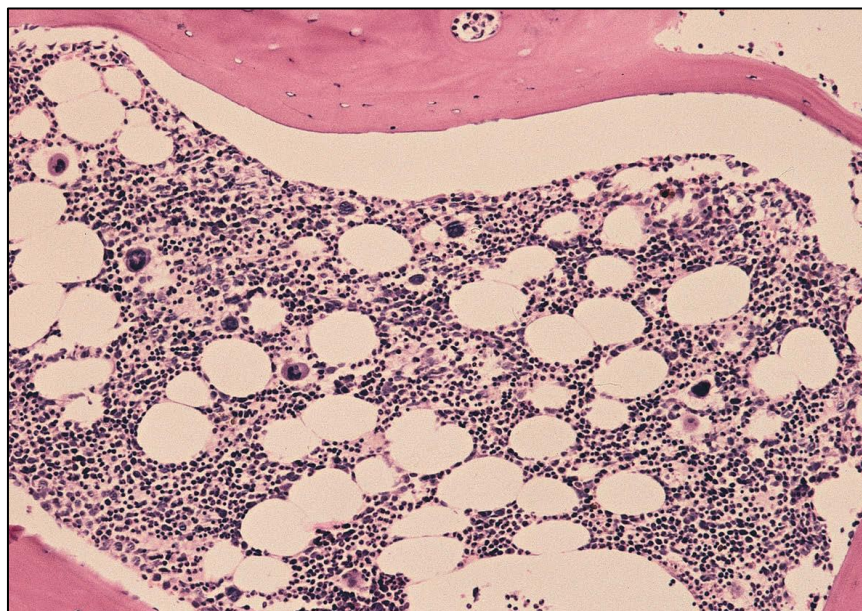
4.3. Mielograma

O mielograma inicia-se com a avaliação macroscópica das lâminas a fim de garantir que foi obtido amostra diagnóstica em quantidade e qualidade suficiente. A análise microscópica avalia a quantidade de espículas e sua celularidade, a quantidade de megacariócitos, reservatórios de ferro, células hematopoiéticas, células estromais presentes nas espículas, a relação mieloide:eritroide (M:E) e a análise específica das linhagens (eritroide, mieloide e megacariocítica) e seus estágios de maturação. Demais tipos celulares não hematopoiéticos e células anormais encontrados também devem ser quantificados e terem sua morfologia avaliada (RASKIN, MESSICK; 2012).

A celularidade é determinada pela proporção entre células e partículas de gordura, e a porcentagem obtida indica se a medula está normocelular (25 a 75%), hipocelular (abaixo de 25%) ou hipercelular (acima de 75%). Em medulas normais (FIGURA 23), as células

hematopoiéticas se distribuem ao redor das espículas de forma heterogênea, a presença de regiões homogêneas indica a proliferação anormal de células. É fisiológico que a celularidade diminua com o avanço da idade do animal devido à substituição gradual do tecido hematopoiético por gordura e sangue, no entanto, caso a medula encontre-se hipocelular a contagem diferencial torna-se essencial para identificar quais linhagens celulares estão apresentando uma renovação eficiente. A hiper celularidade pode ocorrer por proliferação de uma ou mais linhagens celulares, por resposta a demandas do sangue periférico, como anemias, infecções e inflamações, e por proliferações neoplásicas primárias ou infiltrados neoplásicos (HARVEY 2001).

Figura 23 – Medula óssea normocelular, técnica histopatológica de hematoxilina-eosina observada em aumento de 10x.



Fonte: Reagan, Rovira, DeNicola (2019).

A identificação da morfologia das células permite realizar o cálculo da relação M:E, que compreende a proporção entre precursores granulocíticos e células eritroides presentes na medula óssea, e a avaliação dos estágios de maturação das células, em que células mais maduras devem estar predominantes em relação às formas imaturas (RASKIN, MESSICK; 2012). Células da linhagem eritroide (FIGURA 24) são menores em comparação às mieloides e apresentam núcleo esférico com cromatina altamente condensada e citoplasma basofílico, que adquire tons mais róseos à medida que a maturação ocorre. Rubriblastos e prorrubriblastos são considerados formas imaturas e rubríctos basofílicos, rubríctos

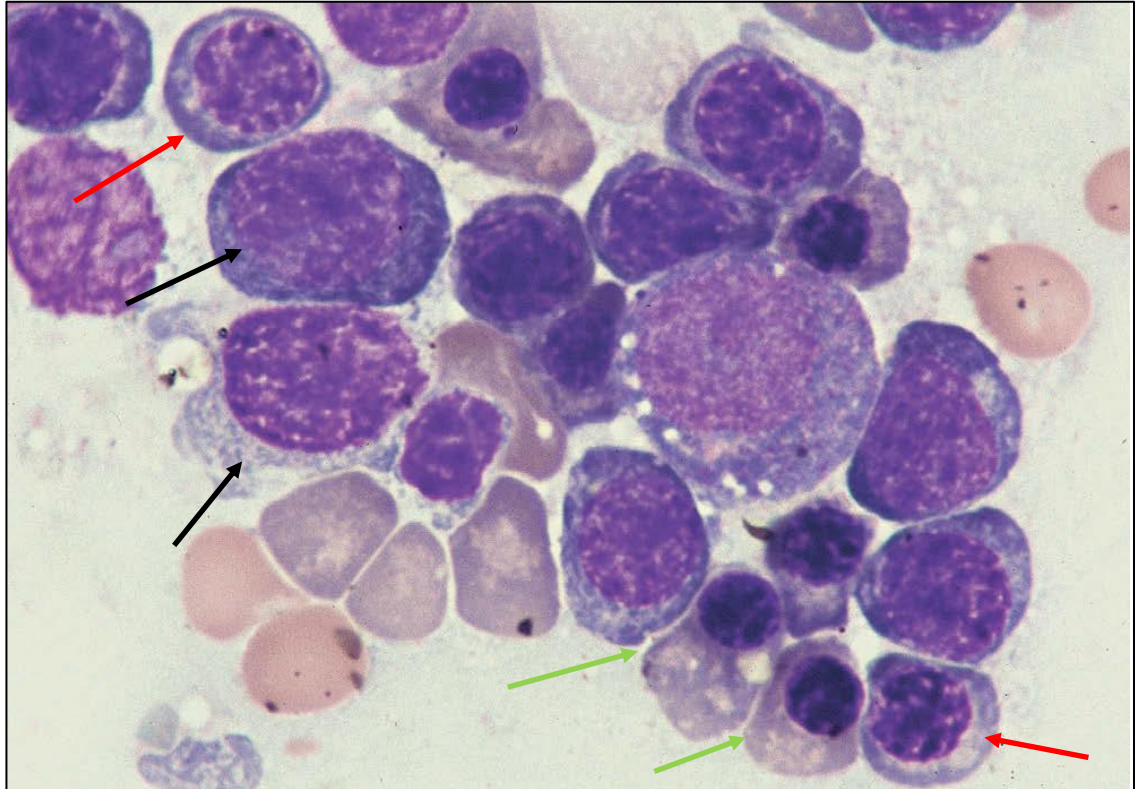
policromatofílicos e metarrubricitos são formas maduras; reticulócitos não são incluídos na relação M:E, mas devem ser relatados. Células da linhagem mieloide (FIGURA 25) são maiores e apresentam núcleo com cromatina finamente granular e citoplasma claro azul-acinzentado; com o decorrer da maturação o citoplasma reduz de tamanho e torna-se praticamente incolor, a cromatina se condensa, o núcleo inicia sua segmentação e os grânulos começam a se tornar mais evidentes (STACY, HARVEY; 2017). A relação M:E varia de acordo com a espécie (TABELA 5) e deve ser interpretada em conjunto com a celularidade, a fim de definir se está ocorrendo processos de hipoplasia ou hiperplasia, e caso sim, se esses processos são de origem eritroide ou mieloide (COUTO, TOLEDO JÚNIOR; 2022).

A relação M:E é obtida através da contagem diferencial de células da medula óssea, onde além de determinar quais tipos de precursores estão presentes, as diferentes fases da maturação celular são quantificadas e avaliadas de acordo com o esperado para a espécie (TABELA 5). Os reservatórios de ferro também devem ser avaliados por meio da identificação do acúmulo de hemossiderina no interior dos macrófagos, sendo útil para confirmar se há deficiência ou acúmulo anormal de ferro na medula óssea (HARVEY, 2001).

Os megacariócitos devem ser diferenciados dos demais precursores celulares e quantificados separadamente. Os estágios mais imaturos como promegacariócitos e megacariócitos basofílicos, podem se assemelhar aos demais precursores, mas são diferenciados pelo seu citoplasma intensamente basofílico e presença de 2 a 4 núcleos originados por endomitose. Megacariócitos maduros (FIGURA 26) apresentam múltiplos núcleos fundidos, coloração mais clara em relação aos imaturos devido à presença de grânulos magenta e, ao contrário dos precursores mieloides e eritroides que diminuem de tamanho com a maturação, maior tamanho que suas formas jovens (STACY, HARVEY; 2017). A quantificação dessas células é imprecisa e não é obtida na contagem diferencial, pois sua distribuição na medula óssea não é uniforme, portanto, são estimados quantos megacariócitos em média existem adjacentes às espículas e classifica-se sua presença em diminuída, normal ou aumentada.

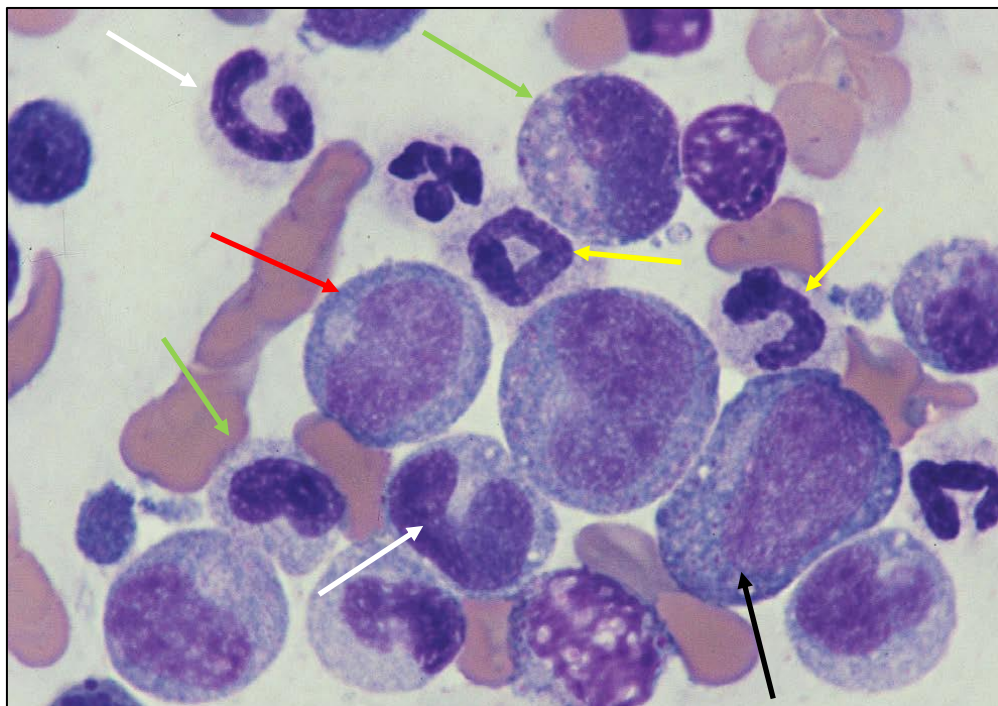
É importante que os achados do mielograma sejam sempre interpretados em conjunto aos resultados dos demais exames hematológicos, para que a conduta clínica seja direcionada com maior precisão

Figura 24 – Precursores eritroides em diferentes estágios de maturação, sendo possível identificar rubriblasto (seta preta), rubrícito (seta vermelha) e metarrubrícito (seta verde), em *squash* de medula óssea de cão corado em técnica de Wright-Giemsa, observado em aumento de 100x.



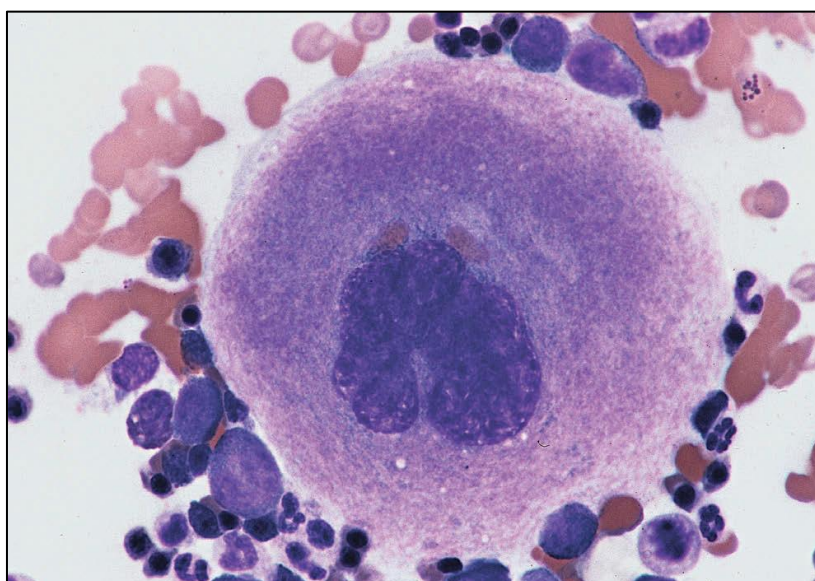
Fonte: Reagan, Rovira, DeNicola (2019).

Figura 25 – Precursores mieloides em diferentes estágios de maturação, sendo possível identificar mieloblastos (seta preta), mielócitos (seta vermelha), metamielócitos (seta verde), bastonetes (seta branca), segmentados (seta amarela), em *squash* de medula óssea de cão corado em técnica de Wright-Giemsa, observado em aumento de 100x.



Fonte: Reagan, Rovira, DeNicola (2019).

Figura 26 – Megacariócito maduro, *squash* de medula óssea de cão corado em técnica de Wright-Giemsa, observado em aumento de 40x.



Fonte: Reagan, Rovira, DeNicola (2019).

Tabela 5 – Valores de referência para contagem diferencial de células da medula óssea em algumas espécies domésticas.

Tipo Celular	Cães	Gatos	Equinos	Bovinos
Mieloblasto	0,4 – 1,1	0 – 0,4	0,3 – 1,5	0 – 0,2
Promielócito	1,1 – 2,3	0 – 3,0	1,0 – 1,9	0 – 1,4
Mielócito neutrofílico	3,1 – 6,1	0,6 – 8,0	1,9 – 3,2	2,8 – 3,4
Metamielócito neutrofílico	5,3 – 8,8	4,4 – 13,2	2,1 – 7,3	2,8 – 6,2
Bastonete neutrofílico	12,7 – 17,2	12,8 – 16,6	6,8 – 14,7	4,6 – 8,4
Neutrófilo	13,8 – 24,2	6,8 – 22,0	9,6 – 21,0	11,2 – 22,6
Células eosinofílicas totais	1,8 – 5,6	0,8 – 3,2	2,8 – 6,8	2,8 – 3,8
Células basofílicas totais	0 – 0,8	0 – 0,4	0 – 1,5	0 – 1,0
Rubriblasto	0,2 – 1,1	0 – 0,8	0,6 – 1,1	0 – 0,2
Prorrubricito	0,9 – 2,2	0 – 1,6	1,0 – 2,0	0,4 – 1,2
Rubricito basofílico	3,7 – 10,0	1,6 – 6,2	4,5 – 11,1	4,8 – 8,4
Rubricito policromatófilico	15,5 – 25,1	8,6 – 23,2	14,7 – 26,0	23,0 – 36,4
Metarrubricito	9,2 – 16,4	1,0 – 10,4	11,4 – 19,7	9,2 – 16,8
Relação M:E	0,9 – 1,76	1,21 – 2,16	0,52 – 1,45	0,61 – 0,97
Linfócitos	1,7 – 4,9	11,6 – 21,6	1,8 – 6,7	3,6 – 6,0
Plasmócitos	0,6 – 2,4	0,2 – 1,8	0,2 – 1,8	0,2 – 1,2
Monócitos	0,4 – 2,0	0,2 – 1,6	0 – 1,0	0,4 – 2,2
Macrófagos	0 – 0,4	0 – 0,2	0	0 – 0,8

Fonte: Adaptado de Harvey (2001).

4.4. Aplicação do mielograma em hemoparasitoses

As hemoparasitoses são doenças causadas por diferentes agentes patogênicos, mais comumente bactérias, protozoários e helmintos. A transmissão ocorre através do repasto sanguíneo por artrópodes hematófagos e, em animais de companhia, constituem uma grande preocupação para a Medicina Veterinária, tanto pela alta incidência quanto pelo caráter zoonótico de várias dessas doenças. O diagnóstico das hemoparasitoses pode ser desafiador devido aos seus sinais clínicos inespecíficos e à possibilidade de coinfeção por mais de um agente. Portanto, é essencial a avaliação conjunta do histórico do animal, exame físico e exames laboratoriais. O mielograma pode ser uma ferramenta auxiliar importante para o diagnóstico do animal, visto que os hemoparasitos podem se alojar na medula óssea, principalmente em casos crônicos e refratários, e a coleta da medula pode ser utilizada para outros exames confirmatórios, como o PCR (OTRANTO et al, 2010).

Atualmente, estão disponíveis diversos testes sorológicos para a identificação dos microrganismos de maior relevância para cães e gatos (TABELA 6). No entanto, muitas vezes esses testes não são totalmente padronizados ou podem sofrer interferências de reações cruzadas com outros agentes e não diferenciam infecções ativas de infecções prévias, havendo a possibilidade de resultados falso-positivos (TAYLOR; COOP; WALL, 2017). O mielograma é um exame de alta especificidade, em que é possível identificar a presença de formas parasitárias e avaliar a reação medular frente à infecção. Apesar de ter uma sensibilidade menos significativa, é um teste mais sensível do que a pesquisa direta de hemoparasitos no sangue periférico, porém. Dessa forma, a observação do agente e da resposta medular auxiliam no diagnóstico e prognóstico mais precisos das patologias desse animal (COUTO, TOLEDO JÚNIOR, 2022).

Contudo, alguns agentes são visualizados majoritariamente ou apenas durante a fase aguda, fazendo com que a caracterização da reação medular seja importante para determinar a atividade hematopoiética e direcionar o tratamento. A reação varia de acordo com a resposta imunológica do indivíduo, com o agente patogênico e com a fase da infecção. (DE HOLANDA et al., 2019). Durante a fase aguda, as hemoparasitoses tendem a causar agressões reversíveis à medula óssea e a carga de microrganismos no órgão nessa fase geralmente é elevada (FIGURA 27). Podem ser observadas tanto hipocelularidade, por lesão às células hematopoiéticas parasitadas, ou hipercelularidade, devido ao estímulo para a regeneração de hemácias (hiperplasia eritroide) e a produção de leucócitos (hiperplasia mieloide) para combater a infecção. Já na fase crônica, os sinais clínicos são mais brandos, porém ainda há lesão às células hematopoiéticas, sendo mais comum encontrar normocelularidade ou hipocelularidade (FIGURA 28), possível arregeneração e menor quantidade de megacariócitos, que podem resultar em distúrbios coagulatórios (ARAÚJO et. al., 2022).

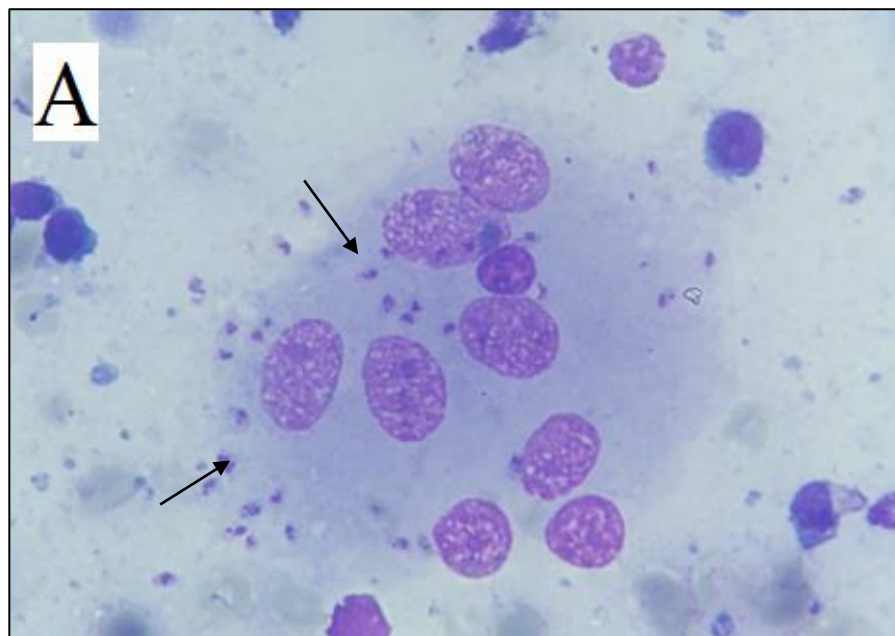
No mielograma, portanto, são identificadas alterações importantes da medula óssea nas quais a conduta clínica deve se basear para adotar abordagens terapêuticas adequadas, evitando o uso prolongado de antibióticos ou de bases medicamentosas inadequadas. Ademais, o mielograma apresenta baixo custo financeiro para sua realização e a medula óssea coletada pode ser usada para outros testes concomitantes, fazendo com que seja um exame de grande relevância no diagnóstico e, principalmente, prognóstico; destacando-se em casos em que não é possível identificar facilmente o hemoparasito (COUTO, TOLEDO JÚNIOR, 2022).

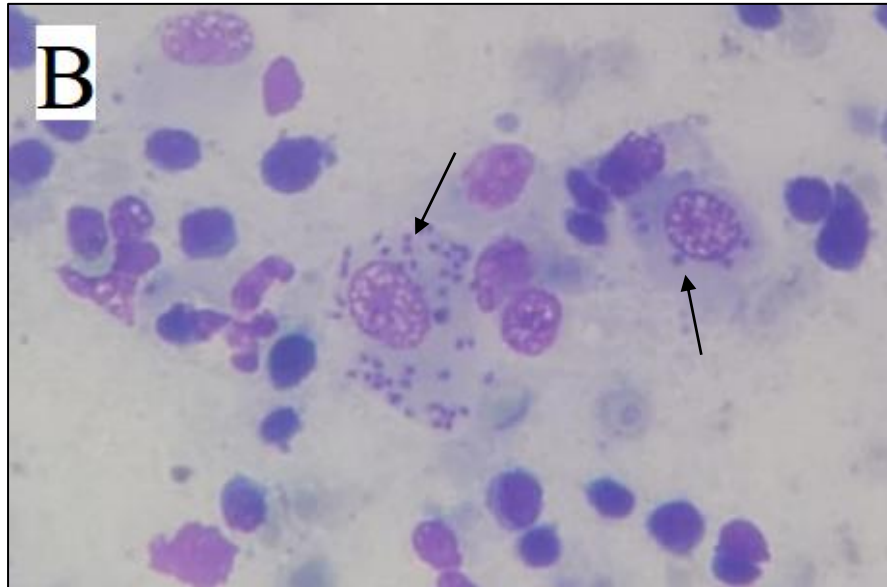
Tabela 6 – Algumas espécies de hemoparasitos de cães e gatos de maior relevância na América do Sul.

ESPÉCIE HOSPEDEIRA	ESPÉCIE PARASITA	
	Protozoários	Bactérias
Canina	<i>Babesia canis</i> <i>Babesia rossi</i> <i>Babesia vogeli</i> <i>Babesia gibsoni</i> <i>Hepatozoon</i> sp. <i>Leishmania</i> sp. <i>Theileria</i> sp. <i>Trypanosoma cruzi</i> <i>Trypanosoma evansi</i>	<i>Anaplasma platys</i> <i>Ehrlichia canis</i> <i>Ehrlichia chaffensis</i> <i>Ehrlichia ewingii</i> <i>Rickettsia rickettsii</i> <i>Rickettsia conorii</i> <i>Rickettsia felis</i>
Felina	<i>Babesia felis</i> <i>Babesia cati</i> <i>Cytauxzoon felis</i> <i>Hepatozoon</i> sp. <i>Leishmania</i> sp. <i>Trypanosoma brucei brucei</i> <i>Trypanosoma cruzi</i>	<i>Mycoplasma haemofelis</i> <i>Rickettsia felis</i>

Fonte: Da autora (2023).

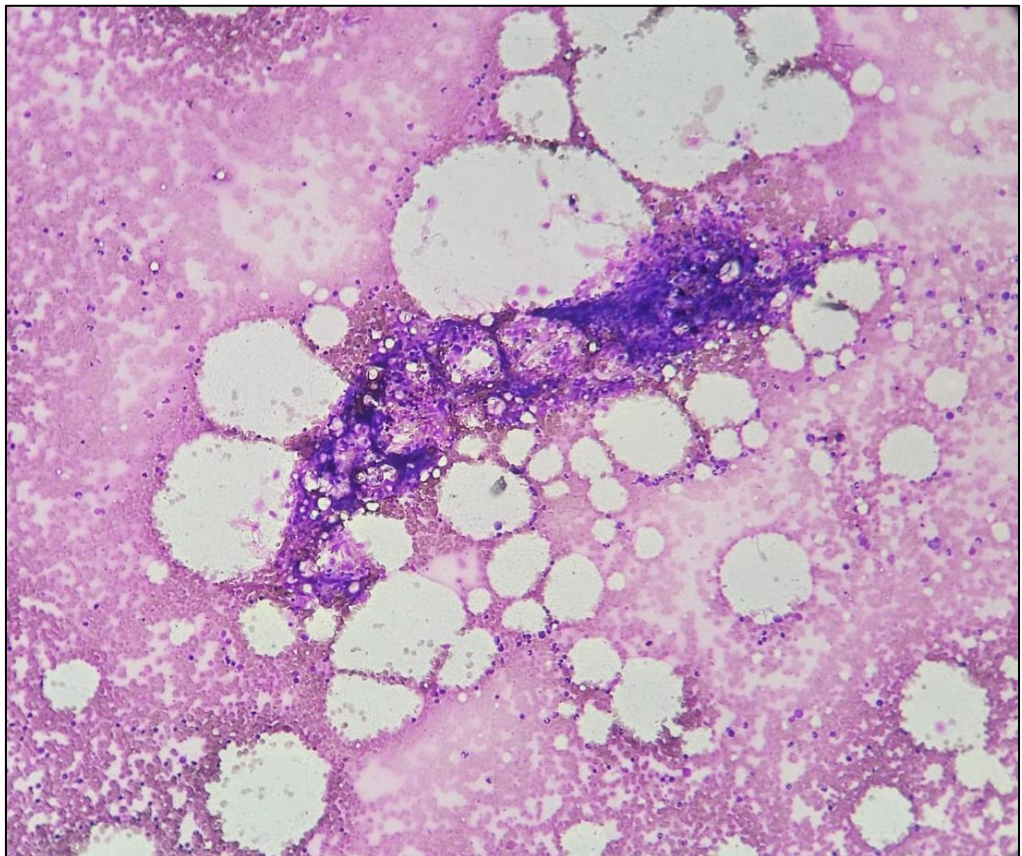
Figura 27 – Presença intensa de formas amastigotas de *Leishmania* sp. (setas) em macrófagos da medula óssea, *squash* de medula óssea de cão corado em técnica de Wright, observado em aumento de 100x (A) e 40x (B).





Fonte: Da autora (2023).

Figura 28 – Medula óssea hipocelular, *squash* de medula óssea de cão corado em técnica de Wright observado no aumento de 10x.



Fonte: Da autora (2023).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o estágio curricular foram observadas algumas adaptações das técnicas em ambos os laboratórios, seja para a redução de custos ou de tempo de realização dos exames em casos de urgência, mas com pouca ou nenhuma interferência nos resultados obtidos. O controle de erros analíticos na instituição pública se mostrou um pouco mais minuciosos do que no ambiente privado, acredita-se que pelo motivo de objetivar futuras pesquisas ou publicações de relatos de caso em meios científicos.

Em relação ao mielograma, pode-se afirmar que é um exame trabalhoso e que demanda tempo, portanto, seu uso ainda é pouco difundido na rotina clínica. Tanto para a coleta da amostra quanto para a análise de lâminas é necessário treinamento específico para evitar erros pré-analíticos e analíticos, o que não costuma ser a realidade dentro dos cursos de Medicina Veterinária do país. Além disso, é necessário amplo conhecimento acerca das patogenias das hemoparasitoses, a fim de determinar a fase em que a doença se encontra para decisão de uma conduta adequada.

O estágio supervisionado obrigatório foi de relevância imprescindível, pois permitiu a consolidação do conhecimento adquirido ao longo do curso de graduação e o aprimoramento prático na área de interesse. Ambos os laboratórios proporcionaram uma rica experiência e o desenvolvimento pessoal, contudo o laboratório particular propicia uma visão mais ampla acerca do mercado de trabalho atual na área e gestão de um laboratório comercial, enquanto o laboratório da instituição de ensino disponibiliza uma gama mais ampla de exames concentrados em um único local, possibilitando um maior contato com os casos e, conseqüentemente, maior enfoque para discussão dos diagnósticos.

6. REFERÊNCIAS

SCHALM, O. W.; WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. p. 3 – 67. Ames, IA: Blackwell Publishing Ltd, 2010.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. B.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2 ed. p. 324 – 358. São Paulo: Roca LTDA, 2015.

HARVEY, J. W. **Atlas of Veterinary Hematology: Blood and Bone Marrow of Domestic Animals**. 1 ed. p. 93 - 123. Filadélfia, PA: W. B. Saunders Company, 2001.

REAGAN, W. J.; ROVIRA, A. R. I; DENICOLA, D. B. **Veterinary Hematology: Atlas of Common Domestic and Non-domestic Species**. 3 ed. p. 1 – 10. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc., 2019.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. 4 ed. p. 630 – 639. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA., 2017.

DE ALENCAR, N. X.; KOHAYAGAWA, A.; HIGINO DE CAMPOS, K. C.; TAKAHIRA, R. K. **Mielograma. Parte I: indicações e colheita do material**. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP, v. 5, n. 2, p. 157–163, 2002.

BIENZLE, D. **Bone Marrow Examination: Why, How, and What to Expect from the Pathologist**. Veterinary Clinics of North America - Equine Practice, v. 36, n. 1, p. 35–52, 2020.

RASKIN, R. E.; MESSICK, J. B. **Bone Marrow Cytologic and Histologic Biopsies: Indications, Technique, and Evaluation**. Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice, v. 42, n. 1, p. 23–42, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.10.001>>

HARVEY, J. W. **Bone Marrow Aspirate Evaluation**. Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice, v. 47, n. 1, p. 31–52, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.07.003>>.

COUTO, M. P. V.; TOLEDO JÚNIOR, J. C. **Mielograma na rotina laboratorial para a clínica de cães**. Pubvet, v. 16, n. 4, p. 1–15, 2022.

DE HOLANDA, L. C.; DE ALMEIDA, T. L. A. C.; DE MESQUITA, R. M.; DE OLIVEIRA, J. M. B.; DA FONSECA OLIVEIRA, A. A. **Hematological observations in the**

blood and bone marrow of dogs naturally infected by Ehrlichia spp. And Anaplasma spp. *Ciencia Animal Brasileira*, v. 20, p. 1–12, 2019.

OTRANTO, D.; TESTINI, G.; DANTAS-TORRES, F.; LATROFA, M. S.; DE PAIVA DINIZ, P. P. V.; DE CAPRARIIS, D.; LIA, R. P.; MENCKE, N.; STANNECK, D.; CAPELLI, G.; BREITSCHWERDT, E. B. **Diagnosis of canine vector-borne diseases in young dogs: A longitudinal study.** *Journal of Clinical Microbiology*, v. 48, n. 9, p. 3316–3324, 2010.

ARAÚJO, R. R. de; SANTOS, H. S. P.; SILVA, S. B.; LEAL, S. M. S.; ARAÚJO, E. M.; BARBOSA, B. de J.; SANTOS, H. O.; SANTANA, J. L. de S.; MOURÃO, A. P. M. de S.; BARROS, N. C. B.; SÁ, I. de S.; CARDOSO, J. de F. S. **Avaliação diagnóstica das hemoparasitoses em cães: Revisão.** *Pubvet*, v. 16, n. 10, p. 1–16, 2022.