



**UNIVERSIDADE DE ÉVORA**

**ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

***Clínica médica e cirúrgica em animais de  
companhia***

Alterações não específicas num esfregaço sanguíneo  
sugestivas de hemoparasitoses

***Verónica Raquel Matado Moreno***

Orientação: Elsa Maria Leclerc Duarte

**Mestrado em Medicina Veterinária**

Relatório de estágio

Évora, 2015





**UNIVERSIDADE DE ÉVORA**

**ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

***Clínica médica e cirúrgica em animais de  
companhia***

Alterações não específicas num esfregaço sanguíneo  
sugestivas de hemoparasitoses

***Verónica Raquel Matado Moreno***

Orientação: Elsa Maria Leclerc Duarte

**Mestrado em Medicina Veterinária**

Relatório de estágio

Évora, 2015



## **RESUMO**

### **Clínica médica e cirúrgica em animais de companhia**

Cerca de oito por cento dos casos admitidos neste estágio curricular foram devidos a doenças infecciosas.

Embora o esfregaço sanguíneo não seja um meio sensível no diagnóstico de infecções por hemoparasitas, o seu papel não deve ser desvalorizado, devendo ser avaliado em conjunto com o hemograma determinado pelo equipamento automático. O objetivo do presente trabalho é evidenciar a importância da análise microscópica do sangue no diagnóstico de doenças infecciosas, mais concretamente hemoparasitoses. Para isso foram avaliados os esfregaços sanguíneos de 18 pacientes diagnosticados com hemoparasitoses. Seguidos da exposição de três casos clínicos diferentes, nos quais se mostra a abordagem dos dados obtidos no exame do esfregaço sanguíneo no diagnóstico de infeção por hemoparasitas.

Ainda que raras vezes tenha sido visualizado o agente etiológico no esfregaço sanguíneo, as alterações identificadas, em conjunto com os restantes dados clínicos, são sugestivas de processos inflamatórios infecciosos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Esfregaço sanguíneo, clínica de animais de companhia, hemograma, hemoparasitas

## **ABSTRACT**

### **Medicine and surgery in companion animals**

About eight percent of cases admitted in this internship were due to infectious diseases.

Although the blood smear isn't a sensitive mean to diagnose hemoparasites infections, its role shouldn't be undervalued and it should be evaluated in conjunction with a complete blood count by automatic equipment. The purpose of this study was to show the importance of microscopic examination of peripheral blood in the diagnosis of infectious diseases, specifically hemoparasitosis. The blood smears of 18 patients diagnosed with hemoparasitosis were assessed, followed by report of three different clinical cases where the analysis of data from blood smear in the diagnosis of hemoparasites infection is shown.

Although, the etiologic agent on the blood smear was rarely found the changes identified, together with other clinical data, were suggestive of infectious inflammatory processes.

**KEY WORDS:** Blood smear, complete blood count, hemoparasites, medical clinic of companion animals

## ÍNDICE GERAL

RESUMO .....	I
ABSTRACT .....	II
Lista de abreviaturas .....	XI
SEÇÃO I- CASUÍSTICA OBSERVADA .....	1
SEÇÃO II- MONOGRAFIA: ALTERAÇÕES NÃO ESPECÍFICAS NUM ESFREGAÇO SANGUÍNEO SUGESTIVAS DE HEMOPARASITOSSES .....	12
CAPÍTULO I- INTERPRETAÇÃO DE UM ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO .....	12
1.1 Morfologia dos eritrócitos .....	12
1.1.1 Alterações na morfologia .....	12
1.1.1.1 <i>Rouleaux</i> .....	12
1.1.1.2 Aglutinação .....	13
1.1.1.3 Policromatófilos .....	14
1.1.1.4 Anisocitose .....	15
1.1.1.5 Hipocromasia .....	15
1.1.1.6 Poiquilocitose .....	15
1.1.1.6.1 Equinócitos (Eritrócitos crenados) .....	16
1.1.1.6.2 Acantócitos .....	16
1.1.1.6.3 Queratócitos .....	17
1.1.1.6.4 Esferócitos .....	17
1.1.1.6.5 Esquizócitos .....	18
1.1.1.6.6 Leptócitos .....	19
1.1.1.6.6.1 Codócitos (Células alvo) .....	19
1.1.1.6.6.2 Estomatócitos .....	19
1.1.1.6.7 Eccentrócitos ( <i>Hemighosts</i> ) .....	20
1.1.1.6.8 Eliptócitos (Ovalócitos) .....	21
1.1.1.6.9 Dacriócitos .....	21
1.1.1.6.10 Eritrócitos lisados (Células fantasma) .....	21
1.1.2 Inclusões nos eritrócitos .....	22
1.1.2.1 Corpos de Howell-Jolly .....	22
1.1.2.2 Corpos de Heinz .....	22
1.1.2.3 Pontilhado basofílico .....	23
1.1.3 Células vermelhas nucleadas .....	24
1.2 Morfologia dos leucócitos .....	25
1.2.1 Polimorfonucleares/ granulócitos .....	25

1.2.1.1	Morfologia dos neutrófilos .....	25
1.2.1.1.1	Neutrófilos imaturos .....	25
1.2.1.1.2	Hipersegmentação .....	26
1.2.1.1.3	Alterações tóxicas .....	27
1.2.1.1.3.1	Granulação tóxica .....	27
1.2.1.1.3.2	Corpos de Döhle .....	27
1.2.1.1.3.3	Vacuolização tóxica .....	27
1.2.1.1.3.4	Basofilia citoplasmática .....	28
1.2.1.1.3.5	Neutrófilos gigantes .....	28
1.2.1.1.3.6	Neutrófilos “donut” .....	29
1.2.1.2	Morfologia dos eosinófilos .....	29
1.2.1.3	Morfologia dos basófilos .....	30
1.2.2	Mononucleares .....	31
1.2.2.1	Morfologia dos monócitos .....	31
1.2.2.2	Morfologia dos linfócitos .....	31
1.2.2.2.1	Linfócitos reativos .....	32
1.2.2.2.1.1	Linfócito tipo II de Downey .....	33
1.2.2.2.1.2	Linfócito tipo III de Downey .....	34
1.2.2.2.2	Plasmócitos .....	34
1.3	Morfologia das plaquetas .....	34
1.3.1	Plaquetas ativadas .....	35
1.3.2	Macroplaquetas .....	35
1.3.3	Plaquetas hipogranulares .....	35
CAPÍTULO II- HEMOPARASITAS DE CÃES E GATOS .....		36
2.1	Infeções bacterianas .....	36
2.1.1	Doença riquetsial .....	36
2.1.1.1	Agente etiológico .....	36
2.1.1.2	Patofisiologia e sinais clínicos .....	37
2.1.1.3	Diagnóstico .....	39
2.1.1.3.1	Hemograma .....	39
2.1.1.3.2	Esfregaço sanguíneo .....	39
2.1.1.3.3	Bioquímicas séricas .....	41
2.1.1.3.4	Serologia .....	41
2.1.1.3.5	Técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) .....	41
2.1.1.4	Terapêutica .....	42
2.1.2	Micoplasmose hemotrófica .....	43
2.1.2.1	Agente etiológico .....	43
2.1.2.2	Patofisiologia e sinais clínicos .....	44

2.1.2.3	Diagnóstico .....	45
2.1.2.3.1	Hemograma .....	45
2.1.2.3.2	Avaliação do esfregaço sanguíneo .....	46
2.1.2.3.3	Bioquímicas séricas .....	46
2.1.2.3.4	Técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) .....	47
2.1.2.4	Terapêutica .....	48
2.2	Infeções parasitárias .....	49
2.2.1	Babesiose .....	49
2.2.1.1	Agente etiológico .....	49
2.2.1.2	Patofisiologia e sinais clínicos .....	51
2.2.1.3	Diagnóstico .....	51
2.2.1.3.1	Hemograma .....	51
2.2.1.3.2	Esfregaço sanguíneo .....	52
2.2.1.3.3	Bioquímicas séricas .....	52
2.2.1.3.4	Serologia .....	53
2.2.1.3.5	Técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) .....	53
2.2.1.4	Terapêutica .....	53
2.2.2	Hepatozoonose .....	55
2.2.2.1	Agente etiológico .....	55
2.2.2.2	Patofisiologia e sinais clínicos .....	56
2.2.2.3	Diagnóstico .....	56
2.2.2.3.1	Hemograma .....	56
2.2.2.3.2	Esfregaço sanguíneo .....	56
2.2.2.3.3	Bioquímicas séricas .....	57
2.2.2.4	Terapêutica .....	57
2.2.3	Dirofilariose .....	57
2.2.3.1	Agente etiológico .....	57
2.2.3.2	Patofisiologia e sinais clínicos .....	58
2.2.3.3	Diagnóstico .....	60
2.2.3.3.1	Hemograma .....	60
2.2.3.3.2	Esfregaço sanguíneo .....	61
2.2.3.3.3	Bioquímicas séricas .....	61
2.2.3.3.4	Serologia .....	61
2.2.3.3.5	Exame de gota fresca .....	62
2.2.3.3.6	Radiografia .....	63
2.2.3.4	Terapêutica .....	64
2.2.3.4.1	Profilaxia .....	64
2.2.3.4.2	Terapia microfilaricida .....	65
2.2.3.4.3	Terapia adulticida .....	66

2.2.3.4.4	Terapia adjuvante .....	67
2.2.3.4.5	Cirurgia .....	68
CAPÍTULO III- AVALIAÇÃO DE ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS .....		70
3.1	Objetivos .....	70
3.2	Material e métodos .....	70
3.2.1	Colheita da amostra e sua manipulação .....	71
3.2.2	Coloração do esfregaço sanguíneo .....	71
3.2.3	Exame do esfregaço sanguíneo .....	71
3.2.3.1	Contagem diferencial de leucócitos .....	72
3.2.3.2	Identificação de leucócitos com morfologia anormal .....	72
3.2.3.3	Avaliação da morfologia dos eritrócitos .....	73
3.2.3.4	Contagem de plaquetas .....	73
3.3	Resultados .....	74
3.3.1	Contagem diferencial de leucócitos .....	74
3.3.2	Identificação de leucócitos com morfologia anormal .....	76
3.3.3	Avaliação da morfologia dos eritrócitos .....	76
3.3.4	Contagem de plaquetas .....	80
3.4	Discussão .....	82
CAPÍTULO IV- CASOS CLÍNICOS .....		92
4.1	Paciente 1 .....	92
4.1.1	Apresentação do caso .....	92
4.1.2	Interpretação hematológica .....	95
4.1.3	Interpretação de resultados adicionais .....	97
4.1.4	Discussão .....	98
4.2	Paciente 11 .....	101
4.2.1	Apresentação do caso .....	101
4.2.2	Interpretação hematológica .....	102
4.2.3	Interpretação de resultados adicionais .....	103
4.2.4	Discussão .....	104
4.3	Paciente 16 .....	105
4.3.1	Apresentação do caso .....	105
4.3.2	Interpretação hematológica .....	106
4.3.3	Discussão .....	108
CONCLUSÕES GERAIS .....		109
BIBLIOGRAFIA .....		111

## ÍNDICE DE GRÁFICOS, TABELAS E FIGURAS

### SEÇÃO I- CASUÍSTICA OBSERVADA

Gráfico 1- Distribuição da casuística por áreas específicas da medicina de animais de companhia (frequências relativas) .....	2
Tabela 1- Discriminação da casuística (medicina interna – sistema digestivo e glândulas anexas) .....	3
Tabela 2- Discriminação da casuística (medicina interna – sistema respiratório) .....	4
Tabela 3- Discriminação da casuística (medicina interna – trato urinário) .....	4
Tabela 4- Discriminação da casuística (medicina interna – sistema endócrino) .....	4
Tabela 5- Discriminação da casuística (medicina interna – doenças infecciosas) .....	5
Tabela 6- Discriminação da casuística (medicina interna – outros) .....	5
Tabela 7- Discriminação da casuística (cardiologia) .....	5
Tabela 8- Discriminação da casuística (dermatologia) .....	5
Tabela 9- Discriminação da casuística (neurologia) .....	6
Tabela 10- Discriminação da casuística (oncologia) .....	7
Tabela 11- Discriminação da casuística (oftalmologia) .....	7
Tabela 12- Discriminação da casuística (reprodução) .....	7
Tabela 13- Discriminação da casuística (medicina estomatológico-dentária) .....	8
Tabela 14- Discriminação da casuística (ortopedia e traumatologia) .....	8
Tabela 15- Discriminação da casuística (tecidos moles) .....	9
Tabela 16- Discriminação da casuística (outros) .....	9
Tabela 17- Discriminação da casuística (profilaxia) .....	10
Gráfico 2- Frequência absoluta e frequência relativa dos meios de diagnóstico complementar usados nos casos clínicos listados nas tabelas 1 a 17 .....	10
Tabela 18- Listagem de cirurgias observadas .....	11

### SEÇÃO II- MONOGRAFIA: ALTERAÇÕES NÃO ESPECÍFICAS NUM ESFREGAÇO SANGUÍNEO SUGESTIVAS DE HEMOPARASITOSE

#### CAPÍTULO I- INTERPRETAÇÃO DE UM ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO

Figura 1- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de <i>rouleaux</i> , neutrófilo, eosinófilo e linfócitos. (Hemacolor® X1000). .....	13
Figura 2- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de policromatófilos, acantócitos, neutrófilos e linfócito. Anisocitose e hipocromasia. (Hemacolor® X400). .....	14
Figura 3- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de dacríócitos, queratócitos e acantócitos. Poiquilocitose. (Hemacolor® X400). .....	16
Figura 4- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de queratócitos e acantócitos. (Hemacolor® X400). .....	17

Figura 5- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de esquizócito e dacriócito. (Hemacolor® X1000). .....	18
Figura 6- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de leptócitos e macroplaqueta. (Hemacolor® X1000). .....	19
Figura 7- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de codócitos, eliptócitos e neutrófilo em banda. Hipocromasia. (Hemacolor® X1000). .....	20
Figura 8- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de estomatócito, células alvo, neutrófilos hipersegmentados e linfócito. Hipocromasia. (Hemacolor® X1000). .....	20
Figura 9- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de eccentricos e acantócitos. (Hemacolor® X1000). .....	21
Figura 10- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de célula fantasma. (Hemacolor® X1000). .....	23
Figura 11- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de corpo de Howell-Jolly num eritrócito, policromatófilo e plaquetas ativadas. (Hemacolor® X1000). .....	23
Figura 12- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de metarubricito. (Hemacolor® X1000). .....	24
Figura 13- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de dacriócito, linfócito, monócito e neutrófilo. (Hemacolor® X400). .....	25
Figura 14- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de equinócitos, corpos de Döhle em neutrófilo e monócito. (Hemacolor® X1000). .....	28
Figura 15- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de equinócitos, corpos de Döhle em neutrófilo e linfócito. (Hemacolor® X1000). .....	29
Figura 16- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de equinócitos e corpos de Döhle em neutrófilo com núcleo em <i>donut</i> . (Hemacolor® X1000). .....	29
Figura 17- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de eosinófilo. (Hemacolor® X1000). ...	30
Figura 18- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de basófilo. (Hemacolor® X1000). .....	30
Figura 19- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de monócito. (Hemacolor® X1000). ...	31
Figura 20- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de corpos de Russell num linfócito reativo. (Hemacolor® X1000). .....	32
Figura 21- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de linfócitos tipo II de Downey. (Hemacolor® X1000). .....	33
Figura 22- Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de linfócitos tipo III de Downey e neutrófilo. (Hemacolor® X1000). .....	33
Figura 23- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de plasmócito. Poiquilocitose. (Hemacolor® X1000). .....	34
 CAPÍTULO II- HEMOPARASITAS DE CÃES E GATOS	
Figura 24- Esfregaços sanguíneos de canídeos. Presença de mórulas de organismos da família <i>Anaplasmataceae</i> . .....	40

Figura 25- Esfregaços sanguíneos de felídeo infetado com <i>Mycoplasma haemofelis</i> . ....	47
Figura 26- Esfregaços sanguíneos de canídeos infetados com <i>Babesia</i> spp. ....	52
Figura 27- Esfregaços sanguíneos de canídeos. Presença de gamontes intracelulares de <i>Hepatozoon</i> sp. no citoplasma de neutrófilos. ....	56
Tabela 19- Protocolo de atuação no diagnóstico e tratamento da dirofilariose canina recomendado pela <i>American Heartworm Society</i> .....	69

### CAPÍTULO III- AVALIAÇÃO DE ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS

Figura 28- Padrão de exame do esfregaço sanguíneo para contagem diferencial de leucócitos.....	72
Tabela 20- Escala de gradação da severidade das alterações degenerativas dos neutrófilos de acordo com o tipo de alterações observadas .....	73
Tabela 21- Avaliação semiquantitativa da morfologia dos eritrócitos baseada na média do número de células anormais por campo, magnificação de 1000X .....	74
Tabela 22- Contagem diferencial de leucócitos .....	75
Tabela 23- Leucograma determinado pelo equipamento automático de hematologia .....	77
Tabela 24- Leucograma determinado com base na contagem diferencial de leucócitos .....	78
Tabela 25- Frequência relativa de linfócitos reativos nos pacientes .....	78
Tabela 26- Alterações da morfologia dos eritrócitos .....	79
Tabela 27- Frequências absolutas e frequências relativas das alterações na morfologia dos eritrócitos .....	79
Tabela 28- Eritrograma .....	80
Tabela 29- Presença de <i>rouleaux</i> .....	80
Tabela 30- Contagem plaquetária .....	81
Tabela 31- Principais padrões de leucocitose baseados na concentração de leucócitos .....	91

### CAPÍTULO IV- CASOS CLÍNICOS

Figura 29- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de corpos de Döhle em neutrófilo. Poiquilocitose. (Hemacolor® X400). ....	92
Figura 30- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de rubricito. Poiquilocitose e anisocitose. (Hemacolor® X400). ....	92
Figura 31- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de eritroblasto. Poiquilocitose e anisocitose. (Hemacolor® X400). ....	93
Figura 32- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de dois neutrófilos e linfócito atípico. Poiquilocitose e anisocitose. (Hemacolor® X400). ....	93
Figura 33- Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de basófilo. (Hemacolor® X1000). ....	93
Tabela 32- Resumo dos resultados hematológicos do paciente 1 .....	98
Tabela 33- Resultados das bioquímicas séricas do paciente 1 .....	98
Tabela 34- Resumo dos resultados hematológicos do paciente 11 .....	103

Tabela 35- Resultados das bioquímicas séricas do paciente 11 .....	104
Figura 34- Esfregaço de sangue periférico de canídeo. Presença de microfilária. (Hemacolor® X100). .....	105
Figura 35- Esfregaço de sangue periférico de canídeo. Presença de microfilárias. (Hemacolor® X100). .....	106
Tabela 36- Resumo dos resultados hematológicos do paciente 16 .....	107

## Lista de abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AHIM	Anemia Hemolítica Imunomediada
ALT	Alanina aminotransferase
ARN	Ácido ribonucleico
ARNr	Ácido ribonucleico ribossômico
AST	Aspartina aminotransferase
CAMV	Centro de Atendimento Médico-Veterinário
CHCM	Concentração de Hemoglobina Celular Média
CHM	Concentração de Hemoglobina Média
CID	Coagulação Intravascular Disseminada
DAPP	Dermatite Alérgica à Picada da Pulga
DHPPI	Vírus da esgana canina, adenovírus canino, parvovírus canino, vírus da parainfluenza canina
DTM	<i>Dermatophyte Test Medium</i>
EDTA	<i>Ethylenediamine Tetraacetic Acid</i> , Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FA	Fosfatase alcalina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FeLV	<i>Feline Leukemia Virus</i> , Vírus da Leucemia Felina
Fi	Frequência absoluta
FIV	<i>Feline Immunodeficiency Virus</i> , Vírus da Imunodeficiência Felina
Fr	Frequência relativa
GGT	Gama-glutamil transferase
HARD	<i>Heartworm-Associated Respiratory Disease</i> , Doença respiratória associada a filárias cardíacas
HCT	Hematócrito
<i>hpf</i>	<i>High power field</i>
IFI	Imunofluorescência Indireta
IRC	Insuficiência Renal Crônica
L1	Larva de primeiro estágio
L2	Larva de segundo estágio
L3	Larva de terceiro estágio
L4	Larva de quarto estágio
L5	Larva de quinto estágio
OVH	Ovariohisterectomia
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> , Reação em Cadeia da Polimerase
Pi	Vírus da parainfluenza canina
PIF	Peritonite Infeciosa Felina
PMN	Polimorfonucleares
RCP	Vírus da rinotraqueíte felina, calicivírus felino, vírus da panleucopénia felina
RDW	<i>Red cell Distribution Width</i> , Índice de anisocitose eritrocitária
RT-PCR	<i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i> , Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real
TAC	Tomografia Axial Computorizada
VCM	Volume Celular Médio
VPM	Volume Plaquetário Médio

## SEÇÃO I- CASUÍSTICA OBSERVADA

No decorrer deste estágio curricular, realizado no Hospital Veterinário de Loulé, entre o primeiro dia de Janeiro e 30 de Junho, foram presenciados 596 casos clínicos, os quais abrangeram as áreas de medicina interna, cardiologia, dermatologia, neurologia, oncologia, oftalmologia, reprodução, medicina estomatológico-dentária, ortopedia e traumatologia, tecidos moles entre outros casos pertencentes à área geral de medicina de animais de companhia.

Uma vez que o corpo clínico apenas se dedica à vertente de medicina de animais de companhia, os casos fora desta área geral foram sempre que possível e com o consentimento dos respetivos proprietários, reencaminhados para outros centros de atendimento médico-veterinários (CAMV) mais adequados para esse fim. Exceção a esta regra foram dois casos: um de clínica de animais exóticos, com uma fratura exposta tibiotársica num hamster, e outro de clínica de pequenos ruminantes, tendo sido diagnosticada uma artrite séptica num ovino.

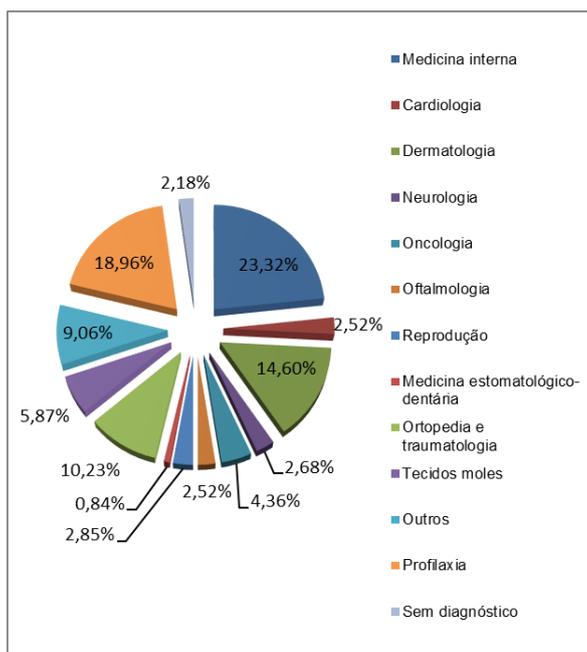
No total foram recebidos 530 pacientes diferentes (394 cães e 136 gatos), mais dez amostras biológicas reencaminhadas de outros CAMV para serem processadas no hospital. Os pacientes foram também acompanhados em 169 consultas de reavaliação adicionais, o que perfaz 699 consultas na globalidade. Trinta e quatro pacientes foram internados num espaço temporal superior a 24 horas.

As áreas gerais de especialidade e as áreas específicas enunciadas na presente dissertação estão de acordo com o citado no Regulamento Geral de Especialidades da Ordem dos Médicos Veterinários. É de salientar que a mesma divisão apenas foi feita com o intuito de simplificar e agrupar a casuística, não significando que os clínicos sejam possuidores do título de especialista respetivo.

A área específica com maior frequência relativa de casos foi a medicina interna com cerca de 23%, seguida de intervenções profiláticas com cerca de 19%, dermatologia com cerca de 15% e ortopedia e traumatologia com cerca de 10%. A frequência relativa destas áreas bem como as restantes, com menor frequência, encontram-se ilustradas no gráfico 1. A discriminação dos casos dentro das respetivas áreas está patente nas tabelas 1 a 17.

Dentro da medicina interna foi efetuada uma subclassificação por sistemas orgânicos, os quais incluem sistema digestivo e glândulas anexas, sistema respiratório, trato urinário e sistema endócrino, e doenças infecciosas e outros. Destas subclasses as que obtiveram maior frequência relativa foram as doenças infecciosas, sistema digestivo e glândulas anexas, e trato urinário com 35%, 30% e 14% dos casos de medicina interna respetivamente. Os agentes da febre da carraça, referida na subclasse “doenças infecciosas” (tabela 5), são todos aqueles que utilizando a carraça como vetor conseguem causar doença clínica no hospedeiro, e incluem as riquetsias (*Rickettsia* spp., *Neorickettsia* spp., *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp.) e os protozoários (*Babesia* spp. e *Hepatozoon* spp.), pelo que o número de casos registado refere-se à infeção ou coinfeção por qualquer um destes agentes. Informação mais detalhada acerca destes agentes será descrita ulteriormente na presente dissertação na seção II- monografia:

alterações não específicas num esfregaço sanguíneo sugestivas de hemoparasitoses, capítulo II- hemoparasitas de cães e gatos, e capítulo IV- casos clínicos. Na subclasse da área de medicina interna intitulada “outros” (tabela 6) estão presentes casos da área da imunologia, hematologia e toxicologia. Um dos dois casos identificados como “defeito hemostático secundário” refere-se a um envenenamento por varfarina (antagonista da vitamina K). “Ingestão/ contacto com tóxicos” inclui um caso de intoxicação por metaldeído (princípio ativo de um moluscicida) e três casos de contacto tópico com substâncias nocivas como diluente e cimento.



**Gráfico 1-** Distribuição da casuística por áreas específicas da medicina de animais de companhia (frequências relativas)

A tabela 16 refere-se a outras atividades desenvolvidas na área geral de medicina de animais de companhia, as quais carecem de especificidade, e incluem: consultas de avaliação pré-cirúrgica; processamento de material biológico (alguns reencaminhados de outros CAMV); alguns procedimentos simples e sem causa patológica subjacente como corte de unhas, esvaziamento dos sacos anais, avaliações da condição corporal, infestações, alterações de comportamento ou comportamento agressivo, morte de neonato por choque térmico; e aleitação de crias para além dos restantes cuidados de higiene e todos aqueles que visam o seu bem-estar e estado hígido.

Para além dos casos clínicos discriminados nas tabelas 1 a 17, 13 pacientes não obtiveram um diagnóstico definitivo, quer por falta de disponibilidade por parte do proprietário, quer pela necessidade de realização de exames de diagnóstico complementares ou acordo mútuo de eutanásia.

Os meios de diagnóstico complementar utilizados nos casos clínicos previamente expostos estão ilustrados no gráfico 2. Da sua análise pode-se constatar que o hemograma, as bioquímicas séricas, a radiografia e a ecografia abdominal ou pélvica foram os meios de

diagnóstico complementar de eleição. A citologia teve também um papel preponderante no diagnóstico de diversas afeções ou, mesmo quando o diagnóstico citológico não foi conclusivo, fornece informação valiosa que pode rentabilizar todo o processo de diagnóstico e indicar qual a terapêutica mais adequada. Os tipos de citologia mais utilizados foram, por ordem decrescente, zaragatoas, entre as quais destacam-se as colheitas do ouvido, retais, vaginais e da conjuntiva; punções aspirativas com agulha fina de nódulos, massas ou órgãos; citologias de efusões ou líquidos colhidos, por exemplo, em toracocenteses, abdominocenteses ou colheita de líquido cefalorraquidiano; citologias por impressão ou aposição de lesões externas ou de tecidos removidos por cirurgia ou necrópsia; e punções de medula óssea. É de salientar que os hemogramas foram seguidos do exame do respetivo esfregaço sanguíneo. Os exames serológicos incluíram o perfil de hemoparasitas (o qual inclui *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* e *Rickettsia conorii*), perfil *Leishmania*, perfil *Dirofilaria immitis* e perfil de alergias com o painel ambiente, os quais representam 31%, 35%, 31% e 4% das requisições respetivamente.

Ao longo deste estágio foram realizadas 55 cirurgias: 80% de cirurgia de tecidos moles e 20% de ortopedia. A listagem das cirurgias consta na tabela 18.

A bandagem de Robert Jones modificada com tala foi utilizada para estabilização de uma fratura radio-ulnar e após uma redução fechada de uma luxação úmero-radio-ulnar. Outros 18 pensos compressivos foram feitos, sendo a maioria bandagens de Robert Jones modificadas.

**Tabela 1-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
Medicina interna	Megaesófago	1	2,86%	0	0,00%	1	2,44%
	Gastrite	4	11,43%	0	0,00%	4	9,76%
	Úlcera gástrica sem perfuração	2	5,71%	0	0,00%	2	4,88%
	Dilatação torção gástrica	1	2,86%	0	0,00%	1	2,44%
	Bolas de pêlo	0	0,00%	2	33,33%	2	4,88%
	Gastroenterite	2	5,71%	0	0,00%	2	4,88%
	Gastroenterite/ neoplasia	1	2,86%	0	0,00%	1	2,44%
	Enterite	4	11,43%	1	16,67%	5	12,20%
	Corpo estranho sem obstrução	3	8,57%	0	0,00%	3	7,32%
	Diarreia responsiva a antibiótico (clostridiose)	3	8,57%	0	0,00%	3	7,32%
	Colíte	6	17,14%	0	0,00%	6	14,63%
	Obstipação intestinal	0	0,00%	2	33,33%	2	4,88%
	Invaginação colónica	1	2,86%	0	0,00%	1	2,44%
	Hérnia abdominal do cólon	1	2,86%	0	0,00%	1	2,44%
	Colelitíase	2	5,71%	0	0,00%	2	4,88%
	Colangite	1	2,86%	0	0,00%	1	2,44%
	Colangite/ colangiohepatite	2	5,71%	0	0,00%	2	4,88%
	Pancreatite	1	2,86%	1	16,67%	2	4,88%
	<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>100,00%</b>	<b>6</b>	<b>100,00%</b>	<b>41</b>	<b>100,00%</b>

**Tabela 2- Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa)**

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
<b>Medicina interna</b> Sistema respiratório	Rinite catarral	1	20,00%	1	20,00%	2	20,00%
	Laringite, faringite	0	0,00%	1	20,00%	1	10,00%
	Rinotraqueíte	1	20,00%	2	40,00%	3	30,00%
	Traqueobronquite parasitária ( <i>Aelurostrongylus abstrusus</i> )	0	0,00%	1	20,00%	1	10,00%
	Aspiração de água salgada	1	20,00%	0	0,00%	1	10,00%
	Inalação de fumo	1	20,00%	0	0,00%	1	10,00%
	Antracose	1	20,00%	0	0,00%	1	10,00%
	<b>Total</b>	5	100,00%	5	100,00%	10	100,00%

**Tabela 3- Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa; IRC- insuficiência renal crônica)**

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
<b>Medicina interna</b> Trato urinário	IRC	5	35,71%	2	33,33%	7	35,00%
	Cistite idiopática felina	0	0,00%	4	66,67%	4	20,00%
	Cistite bacteriana	4	28,57%	0	0,00%	4	20,00%
	Pólipos vesicais	1	7,14%	0	0,00%	1	5,00%
	Cristalúria (ácido úrico)	1	7,14%	0	0,00%	1	5,00%
	Obstrução uretral por retração cicatricial	1	7,14%	0	0,00%	1	5,00%
	Incontinência urinária não neurogênica	1	7,14%	0	0,00%	1	5,00%
	Prostatite com obstrução parcial da uretra prostática	1	7,14%	0	0,00%	1	5,00%
	<b>Total</b>	14	100,00%	6	100,00%	20	100,00%

**Tabela 4- Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa)**

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
<b>Medicina interna</b> Sistema endócrino	Enanismo hipofisário	1	33,33%	0	0,00%	1	25,00%
	Doença de Addison	2	66,67%	0	0,00%	2	50,00%
	Diabetes mellitus tipo II	0	0,00%	1	100,00%	1	25,00%
	<b>Total</b>	3	100,00%	1	100,00%	4	100,00%

**Tabela 5-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa; PIF- peritonite infecciosa felina)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
Medicina interna Doenças infecciosas	Dirofilariose	4	10,81%	0	0,00%	4	8,16%
	Febre da carraça	24	64,86%	0	0,00%	24	48,98%
	Micoplasmose	0	0,00%	6	50,00%	6	12,24%
	Leishmaniose	7	18,92%	0	0,00%	7	14,29%
	Peritonite séptica	1	2,70%	0	0,00%	1	2,04%
	Calicivirose	0	0,00%	2	16,67%	2	4,08%
	Parvovirose	1	2,70%	0	0,00%	1	2,04%
	PIF	0	0,00%	1	8,33%	1	2,04%
	Coriza	0	0,00%	2	16,67%	2	4,08%
	Criptococose	0	0,00%	1	8,33%	1	2,04%
<b>Total</b>	<b>37</b>	<b>100,00%</b>	<b>12</b>	<b>100,00%</b>	<b>49</b>	<b>100,00%</b>	

**Tabela 6-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa; AHIM- anemia hemolítica imunomediada)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
Medicina interna Outros	Reação anafilática aguda	5	45,45%	0	0,00%	5	33,33%
	Síndrome inflamatória sistêmica	2	18,18%	0	0,00%	2	13,33%
	AHIM	1	9,09%	0	0,00%	1	6,67%
	Policitemia relativa	1	9,09%	0	0,00%	1	6,67%
	Defeito hemostático secundário	1	9,09%	1	25,00%	2	13,33%
	Ingestão/ contacto de tóxicos	1	9,09%	3	75,00%	4	26,67%
	<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>100,00%</b>	<b>4</b>	<b>100,00%</b>	<b>15</b>	<b>100,00%</b>

**Tabela 7-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
Cardiologia	Massa no pericárdio	1	8,33%	0	0,00%	1	6,67%
	Doença degenerativa valvular	11	91,67%	0	0,00%	11	73,33%
	Cardiomiopatia hipertrófica	0	0,00%	2	66,67%	2	13,33%
	Tromboembolismo	0	0,00%	1	33,33%	1	6,67%
	<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>100,00%</b>	<b>3</b>	<b>100,00%</b>	<b>15</b>	<b>100,00%</b>

**Tabela 8-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa; DAPP- dermatite alérgica à picada da pulga)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
Dermatologia	Dermatite piotraumática	4	6,15%	0	0,00%	4	4,60%
	Dermatite acral por lambadura complicada	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%
	Dermatite psicogénica	0	0,00%	2	9,09%	2	2,30%
	Dermatite atópica	2	3,08%	3	13,64%	5	5,75%
	Urticária e	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%

	angioedema						
	DAPP	3	4,62%	0	0,00%	3	3,45%
	Dermatite miliar alérgica	0	0,00%	1	4,55%	1	1,15%
	Dermatite de contacto (alérgica)	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%
	Dermatite de contacto (química)	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%
	Sarna	5	7,69%	1	4,55%	6	6,90%
	Dermatite por <i>Malassezia</i> sp.	2	3,08%	0	0,00%	2	2,30%
	Piodermite superficial difusa	2	3,08%	0	0,00%	2	2,30%
	Fleimão	3	4,62%	1	4,55%	4	4,60%
	Laceração	7	10,77%	4	18,18%	11	12,64%
	Abrasão	2	3,08%	1	4,55%	3	3,45%
	Ferida penetrante	3	4,62%	1	4,55%	4	4,60%
	Abcessos drenantes	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%
	Queimadura elétrica	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%
	Penetração de corpo estranho	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%
	Impactação das glândulas dos sacos anais	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%
	Onicomicose por <i>Microsporum</i> spp.	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%
	Avulsão da unha	3	4,62%	0	0,00%	3	3,45%
	Leishmaniose	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%
	Quisto matricial	1	1,54%	0	0,00%	1	1,15%
	Otite externa	15	23,08%	5	22,73%	20	22,99%
	Otite média	0	0,00%	3	13,64%	3	3,45%
	Otohematoma	3	4,62%	0	0,00%	3	3,45%
	<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>100,00%</b>	<b>22</b>	<b>100,00%</b>	<b>87</b>	<b>100,00%</b>

**Tabela 9-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
<b>Neurologia</b>	Estupor hipoglicémico	1	10,00%	0	0,00%	1	6,25%
	Encefalopatia urémica	1	10,00%	0	0,00%	1	6,25%
	Síndrome vestibular secundária a otite média	0	0,00%	3	50,00%	3	18,75%
	Meningite infecciosa	3	30,00%	2	33,33%	5	31,25%
	Meningite inflamatória	1	10,00%	0	0,00%	1	6,25%
	Trauma cranioencefálico/cegueira	1	10,00%	0	0,00%	1	6,25%
	Lesão traumática do segmento L4-S3	0	0,00%	1	16,67%	1	6,25%
	Hérnia intervertebral (Hansen tipo II)	1	10,00%	0	0,00%	1	6,25%
	Neoplasia	2	20,00%	0	0,00%	2	12,50%
	<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>100,00%</b>	<b>6</b>	<b>100,00%</b>	<b>16</b>	<b>100,00%</b>

**Tabela 10-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
<b>Oncologia</b>	Melanoma	1	4,76%	0	0,00%	1	3,85%
	Mastocitoma	1	4,76%	0	0,00%	1	3,85%
	Linfossarcoma mamário	0	0,00%	1	20,00%	1	3,85%
	Adenoma das perianais	1	4,76%	0	0,00%	1	3,85%
	Linfangiossarcoma	1	4,76%	0	0,00%	1	3,85%
	Hemangiossarcoma	1	4,76%	0	0,00%	1	3,85%
	Linfoma de células B	1	4,76%	0	0,00%	1	3,85%
	Osteossarcoma	2	9,52%	0	0,00%	2	7,69%
	Nódulo/ tumor mamário	6	28,57%	2	40,00%	8	30,77%
	Metastases pulmonares (neoplasia da glândula mamária)	2	9,52%	0	0,00%	2	7,69%
	Massa anal	1	4,76%	0	0,00%	1	3,85%
	Tumor cutâneo	1	4,76%	0	0,00%	1	3,85%
	Neoplasia intestinal/ mesentérica	2	9,52%	1	20,00%	3	11,54%
	Neoplasia esplénica	1	4,76%	0	0,00%	1	3,85%
Massa mediastínica	0	0,00%	1	20,00%	1	3,85%	
<b>Total</b>	21	100,00%	5	100,00%	26	100,00%	

**Tabela 11-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
<b>Oftalmologia</b>	Laceração de pálpebra	1	8,33%	0	0,00%	1	6,67%
	Blefarite	1	8,33%	0	0,00%	1	6,67%
	Conjuntivite	1	8,33%	0	0,00%	1	6,67%
	Pragana na conjuntiva	2	16,67%	0	0,00%	2	13,33%
	<i>Cherry eye</i>	1	8,33%	0	0,00%	1	6,67%
	Proptose do globo	1	8,33%	0	0,00%	1	6,67%
	Úlcera de córnea	5	41,67%	1	33,33%	6	40,00%
	Deslocamento completo da retina	0	0,00%	1	33,33%	1	6,67%
	Inflamação do canto do olho com hemorragia	0	0,00%	1	33,33%	1	6,67%
	<b>Total</b>	12	100,00%	3	100,00%	15	100,00%

**Tabela 12-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
<b>Reprodução</b>	Hiperplasia benigna da próstata	4	23,53%	-	-	3	23,53%
	Criptorquidismo	1	5,88%	-	-	1	5,88%
	Monorquidismo	2	11,76%	-	-	2	11,76%
	Comportamento de monta	1	5,88%	-	-	1	5,88%
	Pseudogestação	1	5,88%	-	-	1	5,88%
	Diagnóstico de gestação	1	5,88%	-	-	1	5,88%
	Piômetra	5	29,41%	-	-	5	29,41%
	Cio normal	1	5,88%	-	-	1	5,88%
	Mastite	1	5,88%	-	-	1	5,88%
<b>Total</b>	17	100,00%	-	-	16	100,00%	

**Tabela 13-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
Medicina estomatoló gico- dentária	Rânula	1	33,33%	0	0,00%	1	20,00%
	Estomatite	0	0,00%	1	50,00%	1	20,00%
	Reabsorção odontoclástica	0	0,00%	1	50,00%	1	20,00%
	Destartarização	2	66,67%	0	0,00%	2	40,00%
	<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>100,00%</b>	<b>2</b>	<b>100,00%</b>	<b>5</b>	<b>100,00%</b>

**Tabela 14-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
Ortopedia e traumatologia	Fraturas mandibulares	0	0,00%	3	21,43%	3	4,92%
	Fraturas palatinas	0	0,00%	2	14,29%	2	3,28%
	Fraturas umerais diafisárias	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Fraturas radiolnares diafisárias	1	2,13%	1	7,14%	2	3,28%
	Fraturas falângicas	1	2,13%	1	7,14%	2	3,28%
	Fraturas femorais diafisárias	2	4,26%	2	14,29%	4	6,56%
	Fraturas tibiais diafisárias	2	4,26%	1	7,14%	3	4,92%
	Fraturas fibulares diafisárias	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Fraturas tarsais	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Fraturas metacarpais	0	0,00%	1	7,14%	1	1,64%
	Fraturas metatarsais	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Fraturas íliacas	2	4,26%	1	7,14%	3	4,92%
	Fraturas isquiáticas	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Fraturas púbicas	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Fratura da sínfise do coxal	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Fraturas da asa do sacro	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Luxação da articulação temporomandibular	0	0,00%	1	7,14%	1	1,64%
	Doença discal toracolombar	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Luxação lateral da articulação úmero-radio- ulnar	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Subluxação carpal	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Luxação sacroilíaca	2	4,26%	0	0,00%	2	3,28%
	Displasia da anca	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Luxação coxofemoral craneodorsal	2	4,26%	1	7,14%	3	4,92%
	Doença de <i>Legg-Perthes</i>	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Rutura do ligamento cruzado anterior	2	4,26%	0	0,00%	2	3,28%
	Doença articular degenerativa	8	17,02%	0	0,00%	8	13,11%
	Contusão muscular	1	2,13%	0	0,00%	1	1,64%
	Trauma inespecífico (articular, muscular e tendinoso)	11	23,40%	0	0,00%	11	18,03%
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>100,00%</b>	<b>14</b>	<b>100,00%</b>	<b>61</b>	<b>100,00%</b>	

**Tabela 15-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa; OVH- ovariectomia)

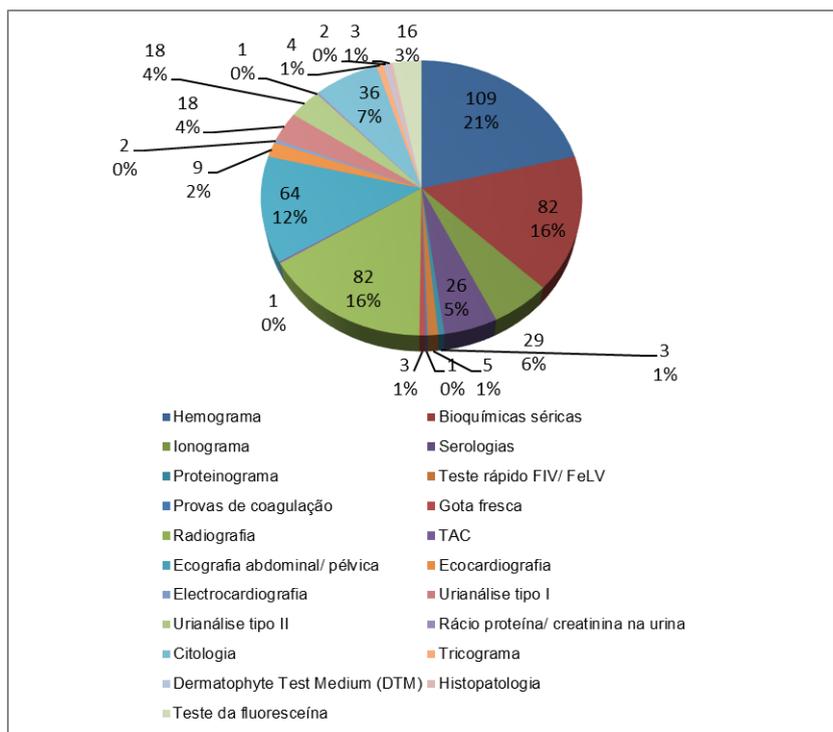
		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
<b>Tecidos moles</b>	Hérnia diafragmática	1	7,14%	1	4,76%	2	5,71%
	Hérnia abdominal pós-cirúrgica	1	7,14%	0	0,00%	1	2,86%
	Pneumotórax	0	0,00%	1	4,76%	1	2,86%
	Perfuração da traqueia com aspiração de sangue	1	7,14%	0	0,00%	1	2,86%
	Fissura no palato sem fratura da sínfise palatina	0	0,00%	2	9,52%	2	5,71%
	Hematoma subcutâneo	1	7,14%	0	0,00%	1	2,86%
	Coágulos vesicais	1	7,14%	0	0,00%	1	2,86%
	Orquiectomia eletiva	4	28,57%	7	33,33%	11	31,43%
	OVH eletiva	5	35,71%	10	47,62%	15	42,86%
	<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>100,00%</b>	<b>21</b>	<b>100,00%</b>	<b>35</b>	<b>100,00%</b>

**Tabela 16-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa; FIV- vírus da imunodeficiência felina; FeLV- vírus da leucemia felina)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
<b>Outros</b>	Consulta pré-cirúrgica	2	5,41%	11	64,71%	13	24,07%
	Hemograma	10	27,03%	1	5,88%	11	20,37%
	Bioquímicas séricas	2	5,41%	0	0,00%	2	3,70%
	Serologias	6	16,22%	0	0,00%	6	11,11%
	Teste FIV/ FeLV	0	0,00%	2	11,76%	2	3,70%
	Coprologia	1	2,70%	0	0,00%	1	1,85%
	Corte de unhas	2	5,41%	0	0,00%	2	3,70%
	Esvaziamento dos sacos anais	2	5,41%	0	0,00%	2	3,70%
	Condição corporal subótima	1	2,70%	0	0,00%	1	1,85%
	Obesidade	0	0,00%	1	5,88%	1	1,85%
	Infestação por pulgas	0	0,00%	1	5,88%	1	1,85%
	Infestação por carraças	1	2,70%	0	0,00%	1	1,85%
	Comportamental	2	5,41%	0	0,00%	2	3,70%
	Morte de neonato	1	2,70%	0	0,00%	1	1,85%
	Aleitação de crias	7	18,92%	1	5,88%	8	14,81%
	<b>Total</b>	<b>37</b>	<b>100,00%</b>	<b>17</b>	<b>100,00%</b>	<b>54</b>	<b>100,00%</b>

**Tabela 17-** Discriminação da casuística (Fi- frequência absoluta; Fr- frequência relativa; DHPPI- vírus da esgana canina, adenovírus canino, parvovírus canino, vírus da parainfluenza canina; Pi- vírus da parainfluenza canina; RCP- vírus da rinotraqueíte felina; calicivírus felino; vírus da panleucopênia felina)

		Cão		Gato		Total	
		Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
<b>Profilaxia</b>	Parvovírus + vírus da esgana	7	7,78%	0	0,00%	7	6,19%
	DHPPI + <i>Leptospira</i> spp.	39	43,33%	0	0,00%	39	34,51%
	Pi + <i>Leptospira</i> spp.	5	5,56%	0	0,00%	5	4,42%
	Vírus da raiva	19	21,11%	0	0,00%	19	16,81%
	Pi + <i>Bordetella bronchiseptica</i>	1	1,11%	0	0,00%	1	0,88%
	Domperidona (Leisguard®)	1	1,11%	0	0,00%	1	0,88%
	RCP	0	0,00%	16	69,57%	16	14,16%
	FeLV	0	0,00%	4	17,39%	4	3,54%
	Desparasitações	11	12,22%	2	8,70%	13	11,50%
	Colocação de microchip	7	7,78%	1	4,35%	8	7,08%
	<b>Total</b>	<b>90</b>	<b>100,00%</b>	<b>23</b>	<b>100,00%</b>	<b>113</b>	<b>100,00%</b>



**Gráfico 2-** Frequência absoluta e frequência relativa dos meios de diagnóstico complementar usados nos casos clínicos listados nas tabelas 1 a 17

**Tabela 18-** Listagem de cirurgias observadas

	<b>Cirurgia</b>	<b>Frequência absoluta</b>
<b>Cirurgia de tecidos moles</b>	Exérese de nódulo cutâneo	1
	Resolução de otohematoma (colocação de botões)	2
	Laparotomia exploratória	1
	Resolução de dilatação torção gástrica com gastropexia de alça de cinto	1
	Enterectomia	1
	Uretrostomia perineal escrotal mais orquiectomia escrotal com ablação do escroto	1
	Ovariohisterectomia	17
	Ovariohisterectomia mais mastectomia	2
	Orquiectomia pré-escrotal aberta	6
	Orquiectomia escrotal	7
	Prepucioectomia parcial com alongamento prepucial	1
	Hérnia diafragmática	1
	Sutura da terceira pálpebra	2
	Enucleação	1
<b>Ortopedia</b>	Estabilização da sínfise mandibular e/ ou sutura do palato	3
	Estabilização de fratura de úmero	1
	Artrodese do carpo	1
	Amputação de dedo	1
	Estabilização de fratura de fêmur	2
	Osteoectomia da cabeça do fêmur	2
	Amputação do membro posterior a nível femoral	1
	<b>Total</b>	<b>55</b>

## SEÇÃO II- MONOGRAFIA: ALTERAÇÕES NÃO ESPECÍFICAS NUM ESFREGAÇO SANGUÍNEO SUGESTIVAS DE HEMOPARASITOSE

### CAPÍTULO I- INTERPRETAÇÃO DE UM ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO

O exame microscópico do sangue ocupa um papel secundário no diagnóstico da maioria das doenças infecciosas, uma vez que essas afeições traduzem-se, a nível sanguíneo, num conjunto de alterações maioritariamente não específicas. O esfregaço sanguíneo é um meio de diagnóstico definitivo unicamente para alguns agentes infecciosos, que incluem *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Mycoplasma* spp., *Babesia* spp., *Hepatozoon* spp. e as filárias. Mas embora as manifestações específicas no esfregaço sanguíneo sejam apenas ocasionalmente observadas, o conhecimento das características morfológicas do sangue, aliado a um nível razoável de vigilância, por vezes possibilita um rápido diagnóstico destes agentes infecciosos. Além disso, certas alterações não específicas num esfregaço sanguíneo, em conjunto com os outros dados obtidos do exame clínico, podem estar suficientemente correlacionados com uma determinada patologia, para orientar o médico veterinário na constituição do seu diagnóstico ou na realização dos exames de diagnóstico complementares mais adequados. Deste modo, o esfregaço sanguíneo pode rentabilizar o processo de diagnóstico, prevenindo custos adicionais ou desnecessários mas, ao possibilitar o diagnóstico precoce de um agente infeccioso, o seu papel secundário pode ser fulcral para salvar uma vida [1].

#### 1.1 Morfologia dos eritrócitos

Os eritrócitos dos mamíferos são anucleados, apresentando na sua maioria uma forma de disco bicôncavo, também chamados de discócitos. Esta forma bicôncava dá origem à zona de palidez central dos eritrócitos observada em esfregaços sanguíneos. Comparativamente ao gato, o cão apresenta tipicamente a zona de palidez central mais marcada, uma vez que os seus eritrócitos são caracteristicamente maiores, tendo um rácio área de superfície/ volume também superior [2, 3].

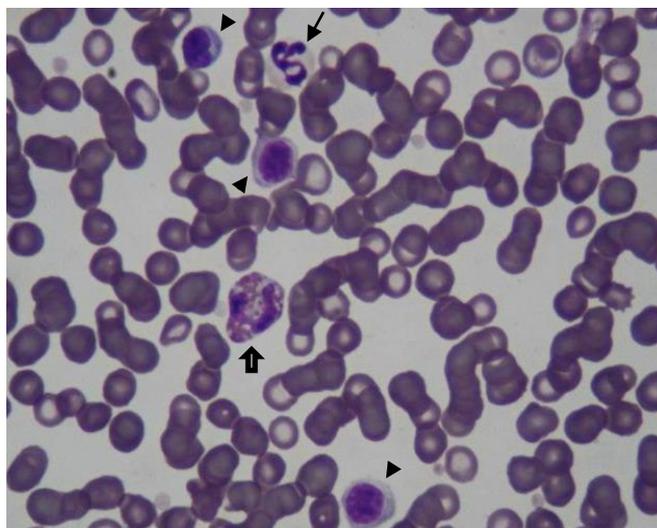
##### 1.1.1 Alterações na morfologia

###### 1.1.1.1 *Rouleaux*

As formações de *rouleaux* (figura 1) são identificadas como aquilo que parecem “pilhas de moedas” [2, 4].

O aumento das proteínas plasmáticas, particularmente imunoglobulinas e outras proteínas inflamatórias como o fibrinogénio, potenciam a formação de *rouleaux* [2, 4, 5]. Essas proteínas bloqueiam as cargas negativas da membrana dos eritrócitos, as quais são responsáveis pela repelência entre eritrócitos [4].

O *rouleaux* resulta tanto de situações inflamatórias, como de desordens linfoproliferativas produtoras de elevadas quantidades de imunoglobulinas [2]. Os gatos, mesmo num estado hígido, frequentemente exibem *rouleaux* nos seus esfregaços sanguíneos [2, 6].



**Figura 1-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de *rouleaux*, neutrófilo (seta fina), eosinófilo (seta larga) e linfócitos (pontas de setas). (Hemacolor® X1000).

#### 1.1.1.2 Aglutinação

A aglutinação caracteriza-se pela formação de agregados de eritrócitos juntos em *clusters* [2, 4].

Esta resulta da ligação de imunoglobulinas à superfície dos eritrócitos, sendo a imunoglobulina M a principal responsável [2].

Quando presente, é fortemente sugestiva de anemia hemolítica imunomediada, podendo os parasitas dos eritrócitos ser a causa subjacente a este processo [4].

A aglutinação pode originar múltiplos erros nos resultados de hematologia determinados pelo equipamento automático; agregados de eritrócitos podem ser contados como uma célula grande, aumentando o valor do volume celular médio (VCM) e diminuindo a contagem de eritrócitos; agregados muito grandes não são contados de todo, diminuindo ainda mais a contagem de eritrócitos. Como o número de eritrócitos e o VCM são usados pela maioria dos equipamentos de hematologia para calcular o hematócrito (HCT), ( $HCT = VCM \times \text{número de eritrócitos} \div 10$ ), a aglutinação pode causar valores erróneos no HCT. Por sua vez, um HCT incorreto pode originar um erro na concentração de hemoglobina celular média (CHCM), [ $CHCM = (\text{hemoglobina} \div HCT) \times 100$ ] [4].

### 1.1.1.3 Policromatófilos

Os policromatófilos são reticulócitos (*agregata* no gato) que devido ao facto de terem na sua constituição hemoglobina, a qual cora de vermelho, e ribossomas, os quais coram de azul, resultam corados numa gama de violetas [2]. Na figura 2 podem ser visualizados três eritrócitos com a componente azul da coloração mais evidente, tratando-se por isso de policromatófilos.

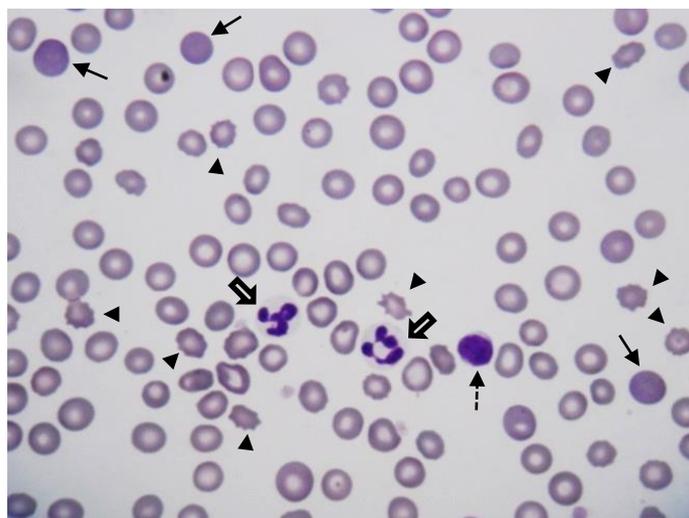
A policromasia define-se como a presença de policromatófilos no esfregaço sanguíneo [2].

Nos gatos, face a uma anemia leve, a medula óssea liberta essencialmente reticulócitos *punctata*. Uma vez que os reticulócitos *punctata* não contêm número suficiente de ribossomas para desencadear uma cor azulada no citoplasma, um esfregaço sanguíneo de um gato com anemia leve pode carecer naturalmente de policromasia [2].

Cães normais podem ter até um por cento de policromatófilos enquanto os gatos podem ter até 0,4% [3, 6, 7].

A contagem de reticulócitos é uma medida mais sensível de regeneração eritrocitária, uma vez que todos os policromatófilos são reticulócitos mas, nem todos os reticulócitos podem ser visualizados no esfregaço sanguíneo como policromatófilos. Apesar disso, a identificação de policromasia marcada num esfregaço sanguíneo é um bom indicador de uma resposta regenerativa [4].

Na presença de policromasia marcada espera-se um ligeiro aumento no VCM e ligeira diminuição no CHCM [4].



**Figura 2-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de policromatófilos (setas finas), acantócitos (pontas de setas), neutrófilos (setas largas) e linfócito (seta a tracejado). Anisocitose e hipocromasia. (Hemacolor® X400).

#### **1.1.1.4 Anisocitose**

A variação no diâmetro dos eritrócitos em esfregaços sanguíneos é chamada de anisocitose [2]. Os gatos tipicamente exibem anisocitose ligeira [6].

A anisocitose pode ocorrer quando um número significativo de células mais pequenas do que o normal são produzidas, como ocorre nas anemias ferropénicas, ou quando um número significativo de células maiores do que o normal são originadas, como ocorre com os reticulócitos. Consequentemente, a anisocitose está geralmente presente nas anemias regenerativas (figuras 2 e 13) mas, pode estar também presente em algumas anemias não regenerativas resultantes de disfunções na eritropoiese [2].

#### **1.1.1.5 Hipocromasia**

Hipocromasia refere-se a um aumento da zona de palidez central dos eritrócitos, tanto em termos de descoloração dessa área como em termos de diâmetro da mesma, devido ao seu baixo conteúdo em hemoglobina [2, 4]. Nas figuras 2, 7, 8 e 13 é manifesta alguma hipocromasia.

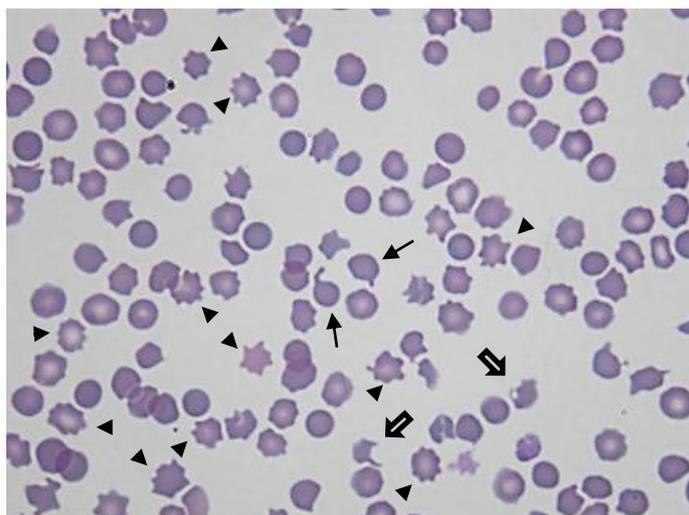
Eritrócitos em forma de tigela, chamados de torócitos, podem mimetizar eritrócitos hipocrómicos, quando na verdade não têm défice de hemoglobina; estas células podem ser reconhecidas pela sua periferia ampla e bem corada com uma transição abrupta para a área de palidez central [2, 4].

A hipocromasia verifica-se em casos de deficiência em ferro, a qual resulta na diminuição da concentração em hemoglobina, ou devido ao aumento do rácio diâmetro/ volume que está patente em células mais finas [2]. A deficiência em ferro é a principal causa de hipocromasia em cães; nas outras espécies os eritrócitos geralmente não ficam hipocrómicos em casos de deficiência em ferro [4].

Como o CHCM é uma média ( $\text{hemoglobina} \div \text{HCT} \times 100$ ) são necessárias muitas células hipocrómicas para baixar este parâmetro. Deste modo, a hipocromasia pode ser evidente no esfregaço sanguíneo mesmo quando o CHCM está dentro do intervalo de referência [4].

#### **1.1.1.6 Poiquilocitose**

Poiquilocitose é o termo geral, usado para referir a presença de eritrócitos com morfologia anormal [2]. Nas figuras 3, 23, 29, 30, 31 e 32 é notória a presença de poiquilocitose.



**Figura 3-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de dacroíctos (setas finas), queratóctos (setas largas) e acantóctos (pontas de setas). Poiquilocitose. (Hemacolor® X400).

#### 1.1.1.6.1 Equinócitos (Eritróctos crenados)

Equinócitos são eritrócitos com a superfície da membrana celular espiculada, nos quais as espículas são de tamanho similar e mais ou menos uniformemente espaçadas. Variam de ligeiramente espiculados (equinodiscóctos) a muito espiculados (esferoequinócitos) e as suas espículas podem ser aguçadas ou rombas [2].

Os equinócitos formam-se quando a área de superfície da monocamada lipídica externa aumenta relativamente à monocamada lipídica interna [2].

A equinocitose é geralmente um artefacto que deriva do excesso de ácido etilendiaminotetracético (EDTA), execução inadequada do esfregaço, ou tempo prolongado de armazenamento da amostra antes da preparação do esfregaço. Mas também tem sido associada a doença renal, alterações electrolíticas, quimioterapia, linfoma, deficiência no enzima piruvato quinase e envenenamento pela cascavel [2, 4, 7].

A presença de equinócitos pode ser visualizada nas figuras 14, 15 e 16.

#### 1.1.1.6.2 Acantóctos

À semelhança dos equinócitos, os acantóctos são eritrócitos espiculados. No entanto, as espículas destes variam de tamanho e estão irregularmente espaçadas [2, 4]. Nas figuras 2, 3, 4 e 9 são visíveis acantóctos.

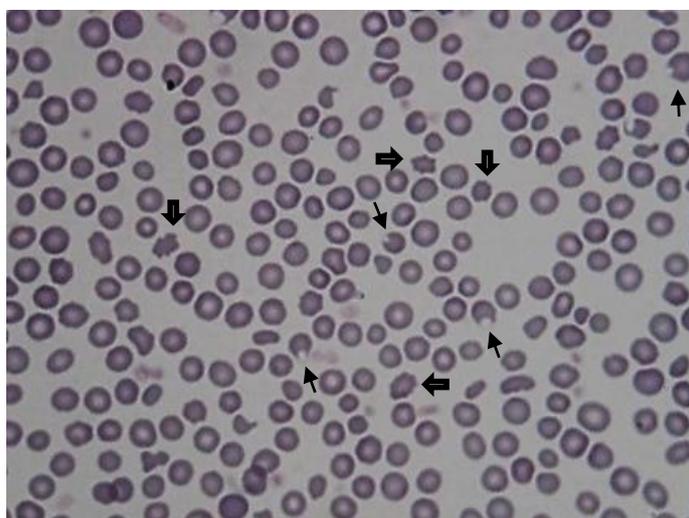
Pensa-se que resultem da alteração do conteúdo lipídico da membrana celular dos eritrócitos (nomeadamente aumento da proporção colesterol/ fosfolípidos) e, desse modo, têm sido associados a alterações no metabolismo lipídico como as que se verificam em doenças hepáticas, como a lipidose hepática [2, 7]. Contudo, têm também sido relacionados com hemangiossarcoma, coagulação intravascular disseminada (CID) ou glomerulonefrite, associados à presença conjunta de esquizóctos [2, 4].

#### 1.1.1.6.3 Queratócitos

Os eritrócitos que contêm uma ou mais “vesículas” intactas ou raturadas são denominados de queratócitos. Essas “vesículas” são na verdade áreas delimitadas por adesões da membrana celular, o que resulta em zonas circulares despigmentadas na periferia do eritrócito (figuras 3 e 4) [2, 4].

Resultam de dano físico ou químico dos eritrócitos, o qual pode ocorrer secundariamente a deficiência em ferro, dano oxidativo, micrangiopatia, toxicidade por doxorrubicina em gatos, síndrome mielodisplásica, ou em várias afeções nos cães que originam equinocitose ou acantocitose concomitante. A formação de queratócitos no gato é potenciada pelo acondicionamento do sangue em EDTA [2, 4].

Os queratócitos são mais suscetíveis ao trauma intravascular e assim, podem progredir para esquizócitos [4].



**Figura 4-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de queratócitos (setas finas) e acantócitos (setas largas). (Hemacolor® X400).

#### 1.1.1.6.4 Esferócitos

Os esferócitos são, como o seu nome indica, eritrócitos esféricos. No esfregaço sanguíneo, carecem de zona de palidez central e possuem um diâmetro mais pequeno que o normal [2, 4].

Os esferócitos são consequência do inchaço das células e/ ou lesão da membrana celular [2].

Estão frequentemente associados a anemia hemolítica imunomediada (AHIM) nos cães, na qual formam-se quando os macrófagos reconhecem o anticorpo ligado ao eritrócito e removem parte da membrana celular deste, resultando na mudança do discócito para a forma esférica [2, 4].

A deteção dum número elevado de esferócitos é fortemente sugestiva de AHIM, embora nem todos os animais com AHIM exibam esferócitos nos seus esfregaços sanguíneos;

todavia, os esferócitos podem também ser observados em animais com anemia por corpos de Heinz, em casos de toxicose por zinco, após transfusão de sangue e, ocasionalmente, em casos de micrangiopatia consequentes a vasculite ou CID [7]. Outros casos que descrevem a sua presença incluem: envenenamento pela cascavel ou cobra coral, na sequência de picadas por abelhas, infecções por parasitas dos eritrócitos e casos de diseritropoiese familiar [2].

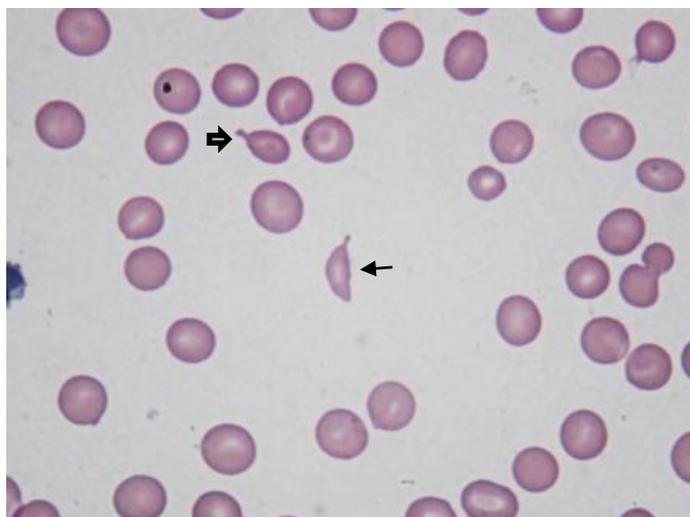
Como os eritrócitos dos gatos exibem naturalmente menos palidez central comparativamente aos cães, a sua identificação torna-se mais difícil nesta espécie [2, 4, 6].

#### 1.1.1.6.5 Esquizócitos

Os esquizócitos (figura 5) são fragmentos de eritrócitos resultantes de trauma intravascular [4].

Em situações de CID os eritrócitos são forçados a passar por malhas de fibrina presentes em pequenos vasos, sofrendo um corte mecânico; como resultado, os eritrócitos podem lisar completamente e selar a membrana, resultando em fragmentação (esquizócitos), ou, quando não há lise completa, selar a membrana, transformando-se em esferócitos. Os esquizócitos são igualmente encontrados em animais com hemangiossarcoma, devido à presença de fluxo sanguíneo turbulento e coágulos localizados (sendo os acantócitos também frequentemente evidentes nestes animais), e noutros processos que originam micrangiopatia, como vasculite e dirofilariose. Podem ser observados juntamente com queratócitos em situações de anemia grave por deficiência em ferro, mielofibrose, hepatopatia, glomerulonefrite, insuficiência cardíaca, alterações na hemofagocitose dos histiócitos e deseritropoiese congénita ou adquirida em cães. Sendo o baço responsável pela remoção de células anormais da circulação sanguínea, a deteção de esquizócitos estará tendencialmente aumentada em animais esplenectomizados [2, 4].

A formação de esquizócitos nos gatos não é tão frequente como no cão, pois os seus eritrócitos são mais pequenos e conseguem fluir mais facilmente pelos eventuais obstáculos à sua passagem [2].



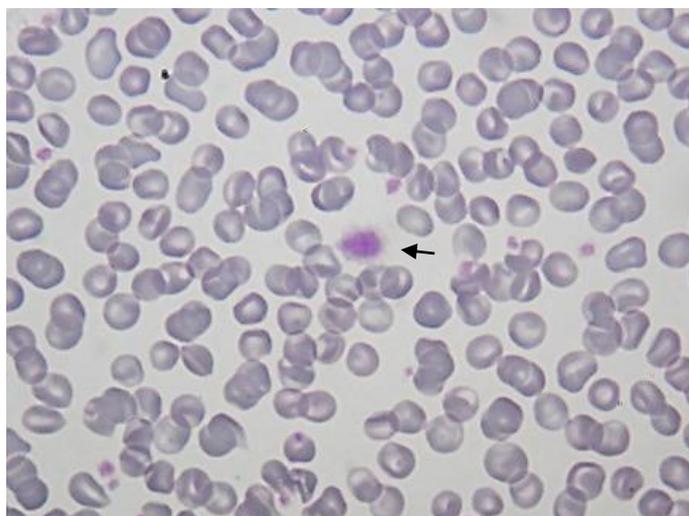
**Figura 5-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de esquizócito (seta fina) e dacríócito (seta larga). (Hemacolor® X1000).

#### 1.1.1.6.6 Leptócitos

São eritrócitos finos, com aparência hipocrômica e aumento do rácio área de superfície/volume. Tratando-se de células de baixa espessura e volume, dobram-se facilmente, pelo que podem facilmente ser detetadas no esfregaço sanguíneo [2]. Na figura 6 é evidente a presença de leptócitos.

Podem ser observados associados a anemias ferropénicas e, raramente, em insuficiências hepáticas que resultam na acumulação balanceada de fosfolípidos e colesterol na membrana celular [2].

Os policromatófilos por vezes podem aparecer como leptócitos [2].



**Figura 6-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de leptócitos e macroplaqueta (seta). (Hemacolor® X1000).

#### 1.1.1.6.6.1 Codócitos (Células alvo)

Os codócitos, presentes nas figuras 7 e 8, são leptócitos em forma de sino, pelo que quando visualizados no esfregaço sanguíneo originam um aumento na densidade da cor a nível central, razão pela qual também são chamados de células alvo [2].

Estes eritrócitos são frequentemente encontrados em cães normais em pequeno número mas, o aumento da sua frequência é indicativo de anemia regenerativa. Os codócitos estão particularmente aumentados em cães com deseritropoiese congénita [2].

#### 1.1.1.6.6.2 Estomatócitos

São um tipo de leptócitos em forma de taça com áreas ovais de palidez central no esfregaço sanguíneo [2].

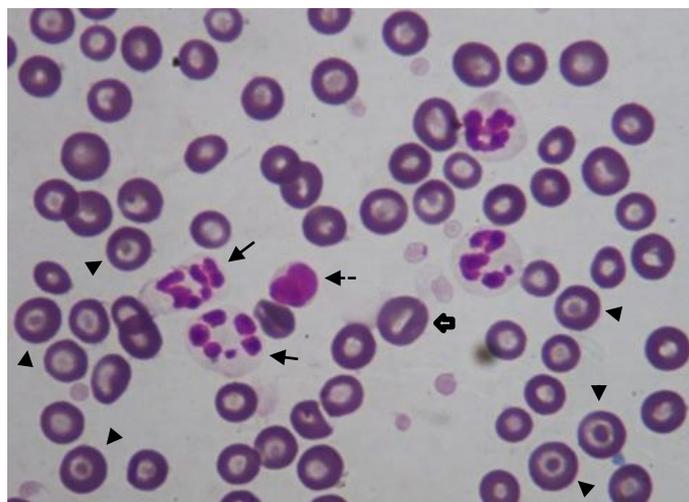
Os estomatócitos formam-se quando o teor em água dos eritrócitos é aumentado, o que ocorre na estomatocitose hereditária em cães. Também se formam em caso de

administração de drogas anfipáticas que distribuem-se preferencialmente na metade interior da bicamada lipídica. Contudo, a grande maioria destes é artefacto [2].

Na figura 8 é observado um estomatócito.



**Figura 7-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de codócitos (setas finas), eliptócitos (setas a tracejado) e neutrófilo em banda (seta larga). Hipocromasia. (Hemacolor® X1000).

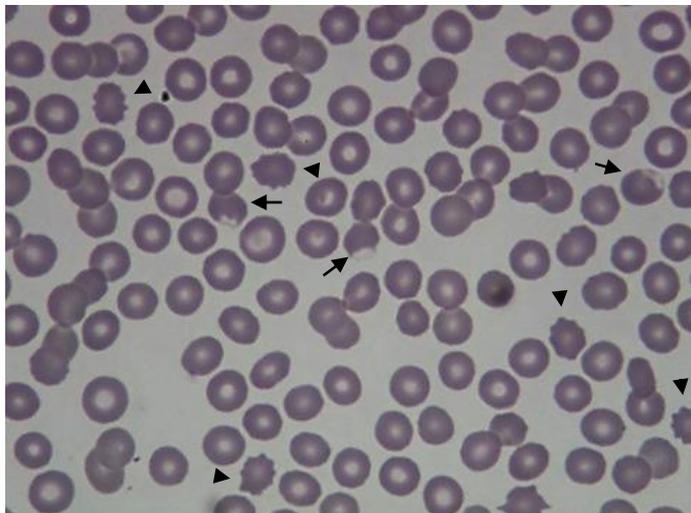


**Figura 8-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de estomatócito (seta larga), codócitos (pontas de setas), neutrófilos hipersegmentados (setas finas) e linfócito (seta a tracejado). Hipocromasia. (Hemacolor® X1000).

#### 1.1.1.6.7 Eccentrócitos (*Hemighosts*)

São eritrócitos que têm um lado da sua membrana celular fundido com outro, resultando numa área desprovida de hemoglobina, a qual se traduz numa zona descorada no esfregaço sanguíneo (figura 9) [2, 4].

Os eccentrócitos estão associados a dano oxidativo celular e podem ser observados juntamente com corpos de Heinz em alguns casos. A presença dos agentes oxidantes pode ser devida a ingestão de cebolas, acetaminofeno ou vitamina K [2, 4].



**Figura 9-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de eccentrócitos (setas) e acantócitos (pontas de setas). (Hemacolor® X1000).

#### **1.1.1.6.8 Eliptócitos (Ovalócitos)**

São eritrócitos com forma elíptica ou oval (figura 7) [2].

No gato, foram associados a afeções mieloproliferativas, leucemia linfoblástica aguda, lipidose hepática, *shunts* portosistêmicos e toxicidade à doxorubicina. No cão, foram associados a mielofibrose, síndrome mielodisplásico e glomerulonefrite, na qual os eliptócitos podem estar espiculados [2].

#### **1.1.1.6.9 Dacriócitos**

Os dacriócitos são eritrócitos em forma de gota ou lágrima. Apresentam uma extremidade alongada, a qual pode ser pontiaguda ou romba [2].

São detetados em cães com glomerulonefrite ou esplenomegalia, e em cães e gatos com afeções mieloproliferativas [2].

Nas figuras 3, 5 e 13 estão presentes dacriócitos.

#### **1.1.1.6.10 Eritrócitos lisados (Células fantasma)**

No esfregaço sanguíneo, os eritrócitos lisados aparecem quase descorados, vislumbrando-se no entanto o seu contorno conferido pela membrana celular [2].

A presença de células fantasma no esfregaço sanguíneo indica que houve lise celular previamente à preparação do mesmo esfregaço. Uma vez que as membranas dos eritrócitos são rapidamente eliminadas da circulação sanguínea, a identificação de eritrócitos lisados

significa que ou houve hemólise intravascular recentemente ou ocorreu hemólise *in vitro* no tubo com anticoagulante após a colheita da amostra sanguínea. Se a hemólise for causada por um agente oxidante, os corpos de Heinz podem ser visíveis dentro da célula fantasma [2].

A diferenciação dos eritrócitos lisados durante a execução da técnica do esfregaço é fácil, uma vez que estes aparecem como manchas bem coradas. Em amostras lipêmicas, os eritrócitos podem mais facilmente lisar durante a execução do esfregaço sanguíneo [2].

Na figura 10 está patente uma célula fantasma.

### **1.1.2 Inclusões nos eritrócitos**

#### **1.1.2.1 Corpos de Howell-Jolly**

São remanescentes nucleares, pequenos e esféricos que se formam na medula óssea sendo posteriormente removidos no baço. As colorações de tipo Romanowsky conferem-lhe uma cor azul escura pois, tratando-se de material nuclear, são basofílicos [2].

Os corpos de Howell-Jolly podem estar presentes em pequeno número (zero a um por cento) nos eritrócitos de gatos normais. São frequentemente associados a anemias regenerativas [2, 4, 6] mas, também são encontrados em animais esplenectomizados, ou que estão a ser tratados com glucocorticoides [2]. A presença de múltiplos corpos de Howell-Jolly pode verificar-se em animais tratados com vincristina se houver anemia regenerativa concomitante [2].

Na figura 11 um dos eritrócitos contém um corpo de Howell-Jolly.

#### **1.1.2.2 Corpos de Heinz**

Estas inclusões são constituídas por precipitados de hemoglobina desnaturada, resultantes de dano oxidativo, os quais formam agregados que se ligam à superfície interna da membrana celular do eritrócito [2, 4].

Como alteram a membrana celular dos eritrócitos, tornam estes mais sensíveis a hemólise intra e extravascular [4].

Dada a sua natureza, à semelhança do citoplasma dos eritrócitos, coram de vermelho a rosa pálido quando são usadas colorações de tipo Romanowsky. Podem ser identificados como projeções da superfície dos eritrócitos, uma vez que estão aderidos internamente à membrana celular, ou podem ser identificados no interior de células fantasma, quando ocorreu hemólise intravascular [2].

Os gatos podem ter até cinco por cento de corpos de Heinz nos seus eritrócitos sem ser considerado patológico [2, 6]. Não só no gato a hemoglobina está mais suscetível à desnaturação por oxidantes endógenos mas, também o baço do gato é menos eficiente na remoção de inclusões eritrocitárias [2].

Os corpos de Heinz estão associados com várias doenças sistémicas no gato, incluindo hipertiroidismo, linfoma e diabetes *mellitus* (especialmente quanto há cetoacidose

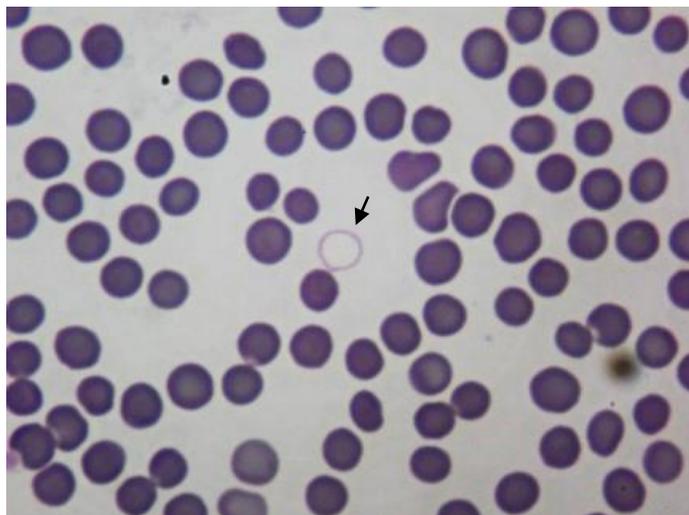
concomitante) [2]. Os agentes oxidantes específicos que têm sido associados à formação de corpos de Heinz em cães e gatos incluem cebola, alho, zinco, propilenoglicol e várias drogas (acetaminofeno, benzocaína, propofol, fenotiazina, vitamina K, entre outros) [2, 4, 8, 9]. Pequenos corpos de Heinz podem ser observados no cão a seguir a uma esplenectomia [2].

Um número elevado de corpos de Heinz pode produzir um valor erroneamente elevado na concentração de hemoglobina, o qual por sua vez pode aumentar falsamente o valor da CHCM [4].

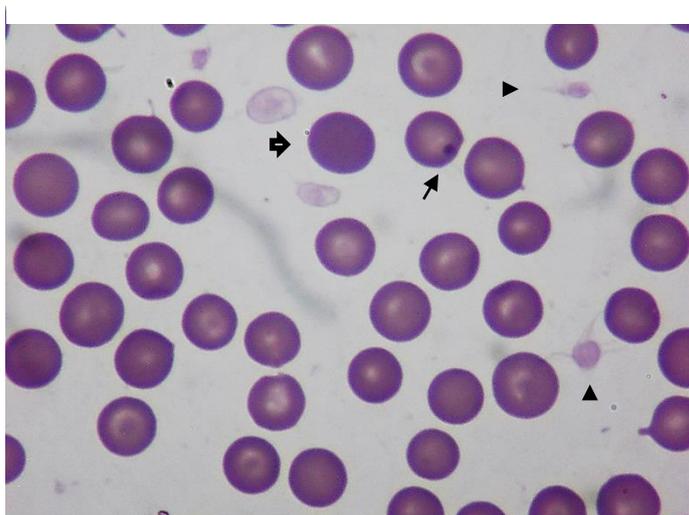
### 1.1.2.3 Pontilhado basofílico

São eritrócitos com agregação puntáctil de ácido ribonucleico ribossômico (ARNr), cujas colorações do tipo Romanowsky conferem-lhes um pontilhado de cor azulada [2, 4].

Ocasionalmente podem ser detetados em animais com anemia fortemente regenerativa mas, também pode ser sugestivo de toxicidade pelo chumbo, especialmente se não houver indícios de anemia regenerativa e houver presença de células vermelhas nucleadas [2, 4].



**Figura 10-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de célula fantasma (seta). (Hemacolor® X1000).



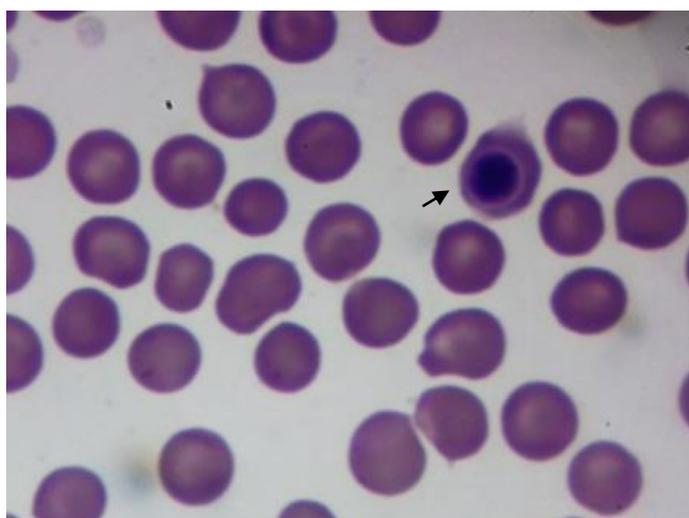
**Figura 11-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de corpo de Howell-Jolly num eritrócito (seta fina), policromatófilo (seta larga) e plaquetas ativadas (pontas de setas). (Hemacolor® X1000).

### 1.1.3 Células vermelhas nucleadas

Incluem metarubricitos (figura 12), rubricitos (figura 30) e outros estádios iniciais do desenvolvimento eritróide [2].

Embora possam estar presentes em pequeno número em alguns cães e gatos saudáveis, a sua identificação não deve ser considerada ordinária em animais adultos [2, 3]. O sangue periférico de cachorros recém-nascidos pode conter bastantes células vermelhas nucleadas mas, diminuem rapidamente durante a primeira semana de vida, alcançando os valores de um adulto entre as quatro e oito semanas de idade [3].

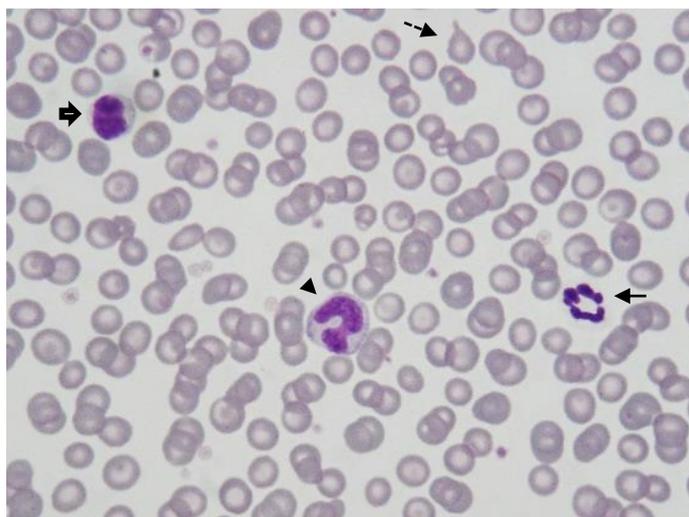
A presença de células vermelhas nucleadas no sangue periférico pode ser devida a várias razões, incluindo: como parte de uma resposta fortemente regenerativa da medula óssea face à anemia, devido a lesão da medula óssea com conseqüente evasão das células para a circulação sanguínea, devido a esplenectomia ou disfunção esplênica, toxicidade pelo chumbo, e neoplasia eritróide. As septicemias, o choque endotóxico e algumas drogas podem lesar a medula óssea e serem a causa subjacente da presença de células vermelhas nucleadas no sangue periférico. A neoplasia eritróide, que ocorre tipicamente em gatos positivos para o vírus da leucemia felina (FeLV), pode causar aumentos dramáticos nas células vermelhas nucleadas e frequentemente contém formas mais imaturas, como prorubricitos e rubriblastos. Estes gatos podem ter megaloblastos circulantes exibindo uma maturação dessincronizada (grandes células vermelhas nucleadas com um núcleo imaturo mas um citoplasma hemoglobinizado). Nos cães, um baixo número de eritrócitos nucleados podem ser encontrados numa ampla variedade de situações que incluem doença cardiovascular, trauma, hiperadrenocorticism e várias condições inflamatórias [2, 4].



**Figura 12-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de metarubricito (seta). (Hemacolor® X1000).

## 1.2 Morfologia dos leucócitos

Os leucócitos são categorizados genericamente em polimorfonucleares (PMN), nos quais o núcleo pode exibir várias formas devido ao seu carácter lobado, ou mononucleares. Os PMN são também chamados de granulócitos, uma vez que o seu citoplasma contém um elevado número de grânulos, os quais de acordo com as suas propriedades de coloração podem ser distinguidos no esfregaço sanguíneo [10].



**Figura 13-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de dacriócito (seta a tracejado), linfócito (seta larga), monócito (ponta de seta) e neutrófilo (seta fina). Hipocromasia. (Hemacolor® X400).

### 1.2.1 Polimorfonucleares/ granulócitos

#### 1.2.1.1 Morfologia dos neutrófilos

Os neutrófilos são os leucócitos mais abundantes no sangue periférico de cães e gatos [3]. Os lobos nucleares podem estar unidos por filamentos finos mas, geralmente há apenas um mero estreitamento entre os lobos. Quando uma área do núcleo tem um diâmetro inferior a dois terços do diâmetro de qualquer outra área do núcleo, o neutrófilo é classificado como maduro, mesmo se presentes apenas dois lobos [10]. No cão e gato, os grânulos dos neutrófilos não coram com as colorações de rotina contudo, podem exibir uma ligeira eosinofilia [3, 10].

Nas figuras 1, 2, 8, 13, 22 e 32 são exibidos alguns neutrófilos maduros sem alterações morfológicas.

##### 1.2.1.1.1 Neutrófilos imaturos

Se o núcleo do neutrófilo for espesso (com nenhuma área menor do que dois terços do diâmetro de qualquer outra área), tiver os lados opostos paralelos e exibir uma forma em U ou S, então estamos perante um neutrófilo em banda [10].

Os neutrófilos maduros e, por vezes, um baixo número de neutrófilos não segmentados (em banda) são libertados da medula óssea para o sangue em animais normais [3, 10]. Quando o número de neutrófilos em banda está acima daquilo que é considerado normal, a sua presença é referida como desvio à esquerda [5, 10]. Desvios à esquerda pronunciados podem resultar na libertação de metamielócitos da medula óssea e por vezes de estádios ainda menos diferenciados [4, 5].

Os desvios à esquerda podem ser classificados como regenerativos, degenerativos, ou leucemóides [5].

Num desvio regenerativo à esquerda, os neutrófilos maduros excedem em número os neutrófilos imaturos, havendo uma distribuição ordeira das células de acordo com o seu grau de maturação (por ordem decrescente: neutrófilos maduros, neutrófilos em banda, metamielócitos, mielócitos) [5].

Quando os neutrófilos em banda superam em número os neutrófilos maduros, estamos perante um desvio degenerativo à esquerda, o qual está frequentemente associado a leucopenia e neutropenia concomitantes [5].

A expressão resposta leucemóide é aplicada quando está presente uma leucocitose marcada ou extrema, na maioria das vezes associada com neutrofilia e desvio à esquerda pronunciado. Numa reação leucemóide pode também ser evidente uma linfocitose ou eosinofilia significativas [5].

Os desvios à esquerda estão geralmente relacionados com condições inflamatórias, infecciosas ou não infecciosas (como ocorre nas afeções imunomediadas ou doença infiltrativa da medula óssea). Estão também presentes em animais com leucemia mielóide crónica e anomalia de Pelger-Huët [4, 5, 6, 10].

A magnitude do desvio à esquerda está relacionada com a gravidade da causa subjacente: um desvio à esquerda com neutropenia ou um desvio degenerativo à esquerda é considerado um sinal de mau prognóstico se for persistente [4, 5].

Nas figuras 7, 14 e 15 são visualizados neutrófilos em banda.

#### **1.2.1.1.2 Hipersegmentação**

A hipersegmentação, também chamada de desvio à direita, refere-se à presença de cinco ou mais lobos nucleares distintos nos neutrófilos [5, 10].

Ocorre como processo normal de envelhecimento e pode refletir tempo prolongado de trânsito no sangue como ocorre na inflamação crónica, na administração de glucocorticoides, ou hiperadrenocorticismo. A hipersegmentação pode estar presente em afeções mieloproliferativas mas, também em cães com defeitos hereditários na absorção da cobalamina e em gatos com défices de folato [5, 9, 10].

Na figura 8 estão presentes dois neutrófilos maduros não hipersegmentados (à direita) e dois neutrófilos hipersegmentados (à esquerda), podendo-se constatar as diferenças entre estes.

#### **1.2.1.1.3 Alterações tóxicas**

As alterações tóxicas nos neutrófilos refletem uma produção acelerada pela medula óssea, a qual causa um defeito na maturação, e estão geralmente associadas com inflamação grave, frequentemente devida a sépsis [4, 5, 10, 11].

Geralmente está presente um desvio à esquerda juntamente com as alterações tóxicas. Se o desvio à esquerda for pronunciado, os metamielócitos tóxicos podem ser difíceis de diferenciar dos monócitos [1, 4, 10].

##### **1.2.1.1.3.1 Granulação tóxica**

A granulação tóxica refere-se à presença de grânulos citoplasmáticos que coram de magenta nas colorações do tipo Romanowsky [10, 11].

Estes grânulos equivalem aos grânulos originais mas, que reteram as suas propriedades de coloração, e são normalmente observados nos promielócitos na medula óssea [10].

A presença de granulação tóxica é sugestiva de toxemia grave [10].

Em cães e gatos é raramente observada [10].

Deve ser diferenciada de inclusões sideróticas, dos grânulos presentes em alguns gatos birmaneses, dos grânulos de animais com doença por sobrecarga lisossomal, bem como daqueles que padecem da síndrome de Chediak-Higashi [6, 10].

##### **1.2.1.1.3.2 Corpos de Döhle**

Os corpos de Döhle são inclusões azuis pálidas geralmente localizadas na periferia dos neutrófilos. Estas inclusões representam agregados do retículo endoplasmático rugoso [1, 10].

Nos gatos não são um achado de relevo semiológico, pois podem ser detetados em gatos saudáveis [10].

Devem ser diferenciados de grânulos com ferro, inclusões virais de esgana em cães e grânulos presentes nos gatos com a síndrome Chediak-Higashi [10].

Os neutrófilos das figuras 14, 15, 16 e 29 contêm corpos de Döhle.

##### **1.2.1.1.3.3 Vacuolização tóxica**

Estes vacúolos são tendencialmente múltiplos, grandes e coalescentes, e frequentemente distorcem a forma da célula [1].

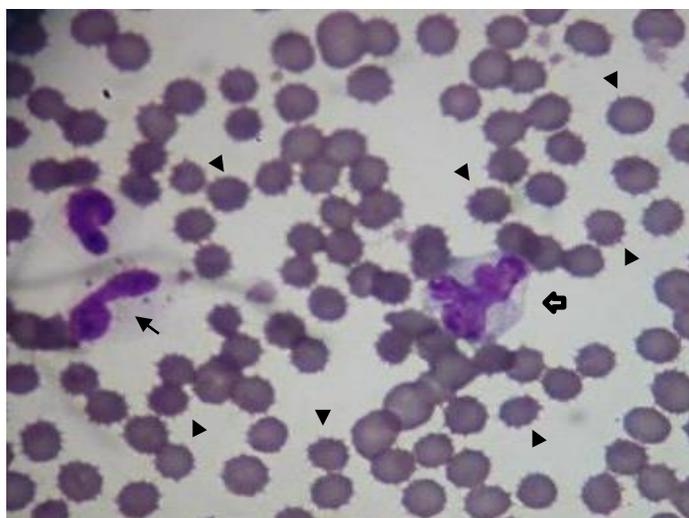
É de salientar que as amostras velhas de sangue acondicionadas em EDTA podem desenvolver vacuolização artefactual nos seus neutrófilos [1, 4, 11]. Nessas situações, os vacúolos neutrofílicos tendem a ser em menor quantidade, mais pequenos, regulares, parecem raturados e não distorcem o contorno da célula; podem também ser observados a cobrir o núcleo [1].

Nas figuras 14 e 16 pode-se vislumbrar alguma vacuolização tóxica.

#### 1.2.1.1.3.4 Basofilia citoplasmática

A basofilia citoplasmática resulta da persistência de grandes quantidades de retículo endoplasmático rugoso e polirribossomas [10].

Os neutrófilos da figura 15 exibem algum grau de basofilia citoplasmática.



**Figura 14-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de equinócitos (pontas de setas), corpos de Döhle em neutrófilo (seta fina) e monócito (seta larga). (Hemacolor® X1000).

#### 1.2.1.1.3.5 Neutrófilos gigantes

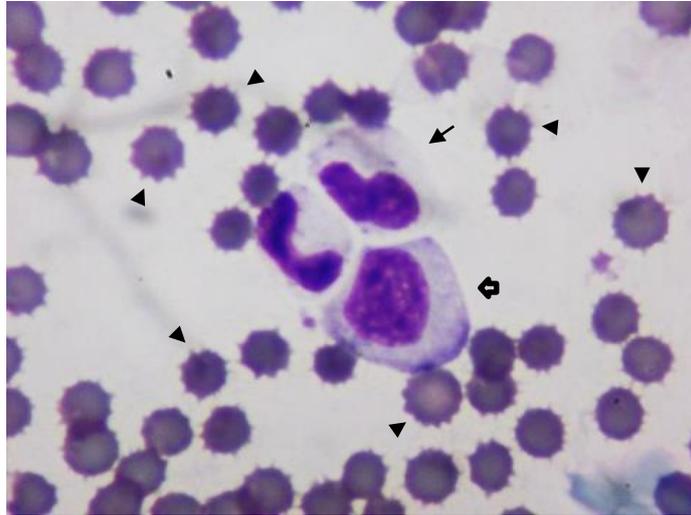
Os neutrófilos gigantes são neutrófilos que exibem, no esfregaço sanguíneo, um aumento no diâmetro celular (superior a 13  $\mu\text{m}$ ). A morfologia nuclear geralmente é segmentada (madura) ou em banda mas, podem aparecer hipersegmentados. São mais comumente observados em gatos do que em cães [5, 10].

Os neutrófilos gigantes estão tipicamente associados a neutrofilias inflamatórias mas, podem também ser observados na síndrome mielodisplásica ou doença mieloproliferativa (especialmente se associada a infeção pelo FeLV) [5, 10]. Podem aparecer transitoriamente em animais como resposta à hipoplasia granulocítica, como acontece na panleucopenia felina [10].

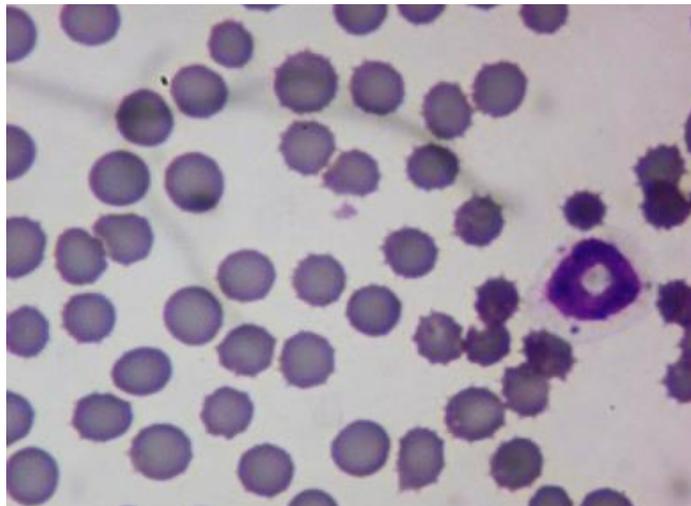
Quando a sua presença resulta de um aumento na taxa de neutropoiese, devem ser considerados alterações tóxicas [5].

#### 1.2.1.1.3.6 Neutrófilos “donut”

São os neutrófilos cujo núcleo descreve uma forma em anel (figura 16) [4].



**Figura 15-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de equinócitos (pontas de setas), corpos de Döhle em neutrófilo (seta fina) e linfócito (seta larga). (Hemacolor® X1000).



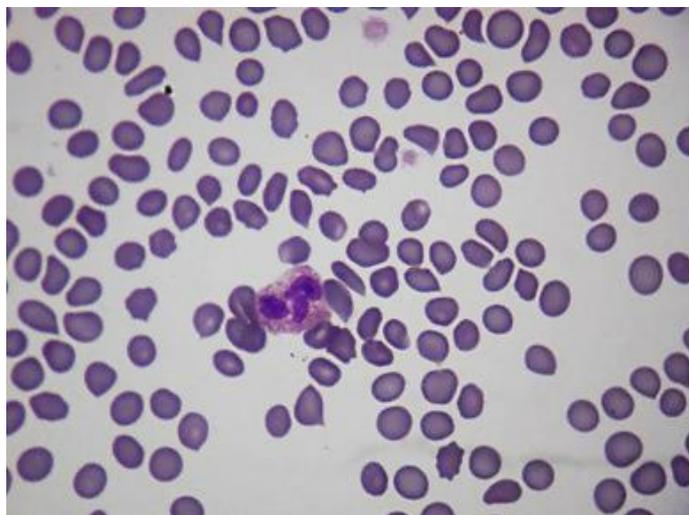
**Figura 16-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de equinócitos e corpos de Döhle em neutrófilo com núcleo em *donut*. (Hemacolor® X1000).

#### 1.2.1.2 Morfologia dos eosinófilos

Os eosinófilos são assim chamados porque os seus grânulos têm afinidade para a eosina, pelo que coram de rosa com as colorações de rotina [10].

Nos cães, e na maioria das espécies, os grânulos dos eosinófilos são redondos (figura 1) mas, nos gatos são em forma de pequenos bastonetes (figura 17). Os eosinófilos dos cães frequentemente exibem alguns vacúolos e os grânulos podem ocasionalmente ser excepcionalmente grandes e pouco numerosos (por vezes um ou dois grânulos). Nos galgos os

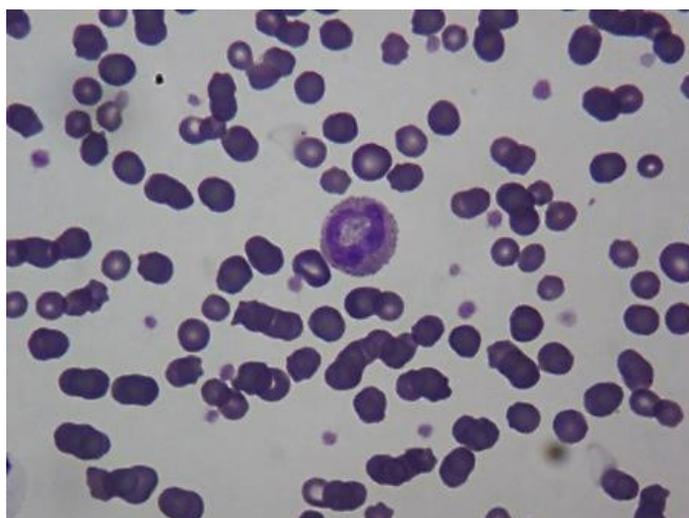
eosinófilos são muito vacuolizados e podem ser confundidos com neutrófilos vacuolizados [3, 10].



**Figura 17-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de eosinófilo. (Hemacolor® X1000).

#### 1.2.1.3 Morfologia dos basófilos

A presença de basófilos é rara nos esfregaços sanguíneos de cães e gatos normais. Os grânulos dos basófilos são, como o seu nome indica, basofílicos. No cão, os grânulos geralmente coram de púrpura e não são suficientemente numerosos para preencher o citoplasma. Nos gatos, a maioria dos seus grânulos são redondos a ovais, coram de lavanda claro (ou cor de malva) e tipicamente preenchem todo o citoplasma (figuras 18 e 33) [6, 10].



**Figura 18-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de basófilo. (Hemacolor® X1000).

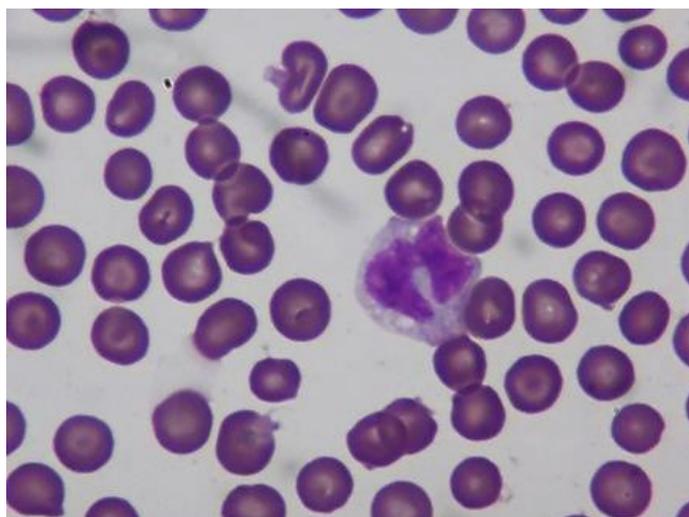
## 1.2.2 Mononucleares

### 1.2.2.1 Morfologia dos monócitos

Os monócitos são maiores do que os neutrófilos. O núcleo dos monócitos pode ser redondo, em forma de rim, em forma de banda ou convoluto (amebóide). O citoplasma é tipicamente azul acinzentado e frequentemente contém vacúolos de vários tamanhos [3, 10].

Os monócitos no cão frequentemente têm o núcleo em forma de banda, pelo que podem ser confundidos com neutrófilos em banda. Nesses casos, a coloração do citoplasma dos neutrófilos maduros deve ser avaliada. Caso não haja indícios de toxicidade, as células com o núcleo em banda e o citoplasma azul acinzentado são identificadas como monócitos. Adicionalmente, as partes terminais do núcleo em forma de banda dos monócitos estão frequentemente alargadas, como uma maçaneta, e a cromatina nuclear dos monócitos não está agregada formando zonas escuras no grau comumente observado nos neutrófilos em banda [3, 10].

Nas figuras 13, 14 e 19 estão presentes monócitos.



**Figura 19-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de monócito. (Hemacolor® X1000).

### 1.2.2.2 Morfologia dos linfócitos

Os linfócitos têm um rácio núcleo/ citoplasma elevado e variam consideravelmente de tamanho. O citoplasma dos linfócitos sanguíneos não estimulados é geralmente azul pálido e os seus núcleos são geralmente redondos mas, podem ser ovais ou ligeiramente indentados (figuras 1, 2, 8 e 13) [3, 10].

Os linfócitos pequenos, presentes nas figuras 1, 2, 8 e 13, têm uma pequena quantidade de citoplasma, a qual frequentemente apenas descreve um aro fino à volta do núcleo ou um quarto crescente, sendo insuficiente para circundar completamente o núcleo [3].

Os linfócitos de tamanho médio, presentes na figura 1, são geralmente menos numerosos no sangue periférico do que os linfócitos pequenos. Estes linfócitos podem aproximar-se do tamanho dos neutrófilos e o seu citoplasma consegue circundar o núcleo na totalidade. Ocasionalmente, podem conter vários grânulos citoplasmáticos de cor rosa a púrpura, sendo designados de linfócitos granulares [3].

#### 1.2.2.2.1 Linfócitos reativos

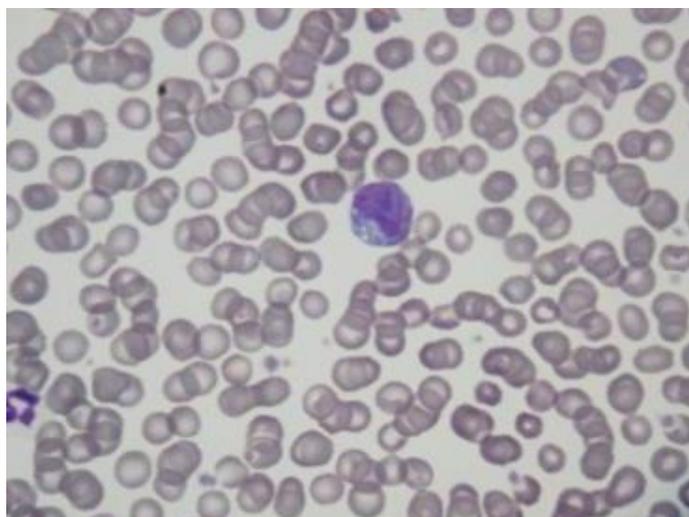
Em resposta a um estímulo antigénico, os linfócitos aumentam de tamanho e o seu citoplasma torna-se mais basofílico [3, 5, 10].

Alguns linfócitos reativos são grandes e com núcleos convolutos. Assemelham-se a monócitos exceto no citoplasma que é mais basofílico (azul marinho) do que o citoplasma observado nos monócitos. Estas células também podem ser difíceis de diferenciar de outros linfócitos neoplásicos, sendo que quando essa distinção não é possível pode usar-se o termo “linfócito atípico”. Precusores eritróides basofílicos também podem ser confundidos com linfócitos reativos [10].

Downey e McKinlay (1993) descreveram duas categorias morfológicas de linfócitos reativos: células tipo II de Downey e células tipo III de Downey [12 referido por 1]. Células de morfologia intermédia entre o tipo II e o tipo III de Downey também são frequentemente identificadas [1].

Alguns linfócitos reativos aparentam ser plasmócitos (*plasma-cell-like*), com um núcleo excêntrico e uma área perinuclear clara, e podem raramente conter glóbulos rosados ou azulados (corpos de Russell) dentro do citoplasma (figura 20). Estas inclusões são compostas de retículo endoplasmático dilatado contendo imunoglobulinas [3, 10].

O aumento da frequência de linfócitos reativos pode estar associada a uma estimulação antigénica de origem infecciosa ou não infecciosa, como acontece nas afeções auto-imunitárias, neoplasias e reações a drogas [1, 5].

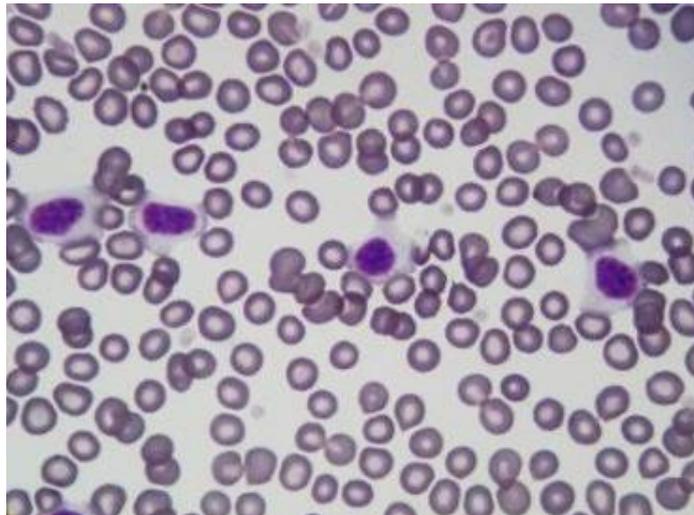


**Figura 20-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de corpos de Russell num linfócito reativo. (Hemacolor® X1000).

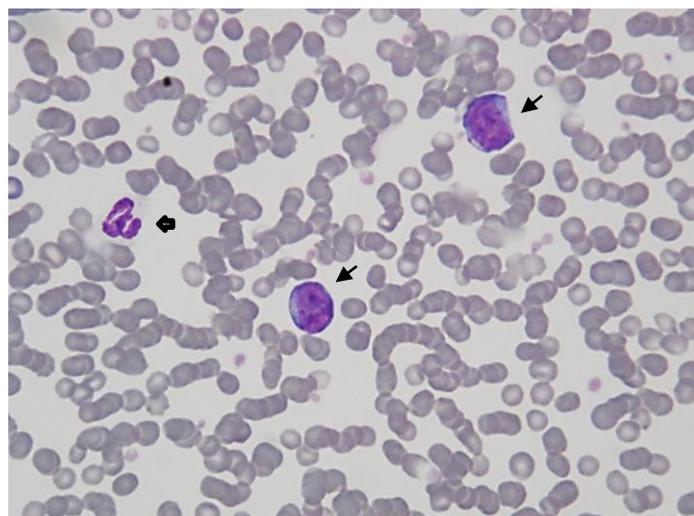
#### 1.2.2.1.1 Linfócito tipo II de Downey

Este tipo de linfócito reativo possui um tamanho médio e cromatina manchada, madura. Os seus nucléolos são imperceptíveis e contém citoplasma cinzento azulado em abundância que pode demonstrar basofilia radial ou periférica. O citoplasma pode também conter alguns grânulos azuis pequenos. Frequentemente demonstram uma aparência amebóide com indentação pelos eritrócitos adjacentes [1].

Nas figuras 15 e 21 são identificados linfócitos reativos do tipo II de Downey.



**Figura 21-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de linfócitos tipo II de Downey. (Hemacolor® X1000).



**Figura 22-** Esfregaço de sangue de canídeo. Presença de linfócitos tipo III de Downey (setas finas) e neutrófilo (seta larga). (Hemacolor® X1000).

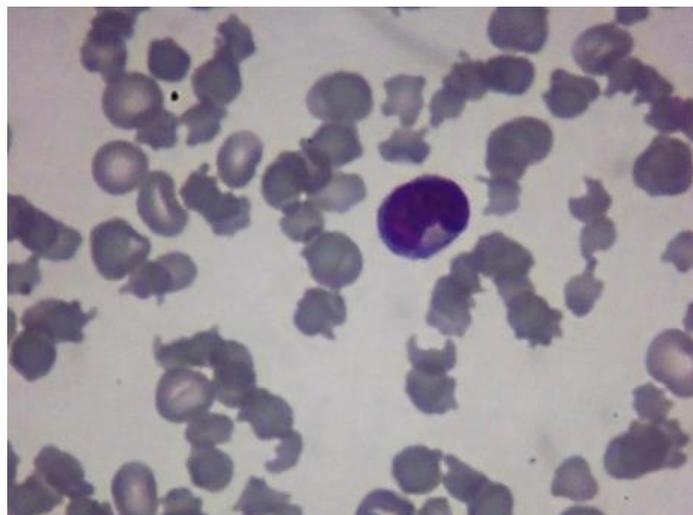
#### 1.2.2.1.2 Linfócito tipo III de Downey

A célula tipo III de Downey (imunoblasto e plasmoblasto) tem um tamanho maior, com agregados de cromatina, paracromatina distinta, um ou mais nucléolos proeminentes e citoplasma muito basofílico [1].

Os linfócitos presentes na figura 22 pertencem à categoria morfológica tipo III de Downey.

#### 1.2.2.2 Plasmócitos

São raramente observados no sangue mesmo na presença de uma neoplasia dos plasmócitos. Os plasmócitos têm um rácio núcleo/ citoplasma menor e basofília citoplasmática maior do que os restantes linfócitos. O núcleo tipicamente tem uma localização excêntrica. Estas células possuem um aparelho de Golgi proeminente, o qual pode manifestar-se como uma área perinuclear pálida no citoplasma visível no esfregaço sanguíneo (figura 23) [10].



**Figura 23-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de plasmócito. Poiquilocitose. (Hemacolor® X1000).

### 1.3 Morfologia das plaquetas

As plaquetas sanguíneas são pequenos fragmentos celulares anucleados provenientes do citoplasma dos megacariócitos e frequentemente exibem uma forma oval a redonda. Quando visualizadas usando as colorações de rotina, o citoplasma das plaquetas aparece levemente corado de cinzento azulado, com numerosos grânulos pequenos de cor rosa a púrpura. Os grânulos podem estar dispersos pela plaqueta ou aglomerados centralmente. As plaquetas dos gatos são maiores do que as dos cães. O sangue dos gatos é especialmente propenso à ativação plaquetária, que se manifesta como finos prolongamentos das plaquetas e agregados plaquetários, aquando da colheita e manipulação do sangue [6, 13].

Ao longo das figuras 1, 2, 4, 6, 8, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21 e 22 podem ser identificadas várias plaquetas, sendo nas figuras 6 e 11 evidenciada a presença de uma macroplaqueta e de plaquetas ativadas, respetivamente.

### **1.3.1 Plaquetas ativadas**

As plaquetas parcialmente ativadas aparecem com finos processos citoplasmáticos que se estendem do seu corpo esférico. Quando as plaquetas estão totalmente ativadas, os seus grânulos são comprimidos por uma rede envolvente de microtúbulos e microfilamentos citoplasmáticos. Estes agregados de grânulos plaquetários centrais podem ser confundidos com um núcleo [13].

Os agregados plaquetários formam-se a seguir à ativação das plaquetas *in vitro*. Se a desgranulação ocorrer, os agregados podem ser difíceis de reconhecer, aparecendo como um material levemente corado de azul nos esfregaços sanguíneos corados [13]. A presença de agregados plaquetários deve ser sempre referida, uma vez que a contagem de plaquetas pode estar subestimada [4, 13].

### **1.3.2 Macroplaquetas**

As plaquetas que têm um diâmetro maior ou igual ao dos eritrócitos são chamadas de macroplaquetas (figura 6) [4, 13].

As macroplaquetas geralmente indicam trombopoiese ativa, e num animal trombocitopénico sugerem que a causa da trombocitopenia não reside na diminuição da produção pela medula óssea [14].

Podem aparecer em baixo número em gatos normais [13]. Além disso, as plaquetas nos gatos frequentemente têm um tamanho próximo dos eritrócitos, criando problemas significativos nas contagens automatizadas de plaquetas determinadas pelos equipamentos baseados na impedância, os quais separam as células de acordo com o tamanho destas; as plaquetas grandes são contadas como eritrócitos, baixando artefactualmente a contagem de plaquetas [4, 6].

A trombocitopenia assintomática com macroplaquetas abundantes (macrotrombocitopenia) é comum no *King Charles Spaniel* [15 referido por 3, 16 referido por 3] e em outros cães de caça com defeitos hereditários na função plaquetária [17 referido por 13, 18 referido por 3].

### **1.3.3 Plaquetas hipogranulares**

Resultam da ativação de plaquetas mas, também podem ser encontradas em animais com afeções mieloproliferativas [13].

## CAPÍTULO II- HEMOPARASITAS DE CÃES E GATOS

### 2.1 Infeções bacterianas

#### 2.1.1 Doença riquetsial

##### 2.1.1.1 Agente etiológico

Dentro da ordem Rickettsiales estão duas famílias (*Anaplasmataceae* e *Rickettsiaceae*) de bactérias patogénicas intracelulares obrigatórias, Gram-negativas, capazes de infetar cães e gatos [19, 20, 21].

Os membros da família *Rickettsiaceae* crescem livres no citoplasma das suas células hospedeiras, enquanto os membros da família *Anaplasmataceae* replicam-se dentro de um vacúolo derivado da membrana celular do hospedeiro [19].

Em 2001, estes organismos foram submetidos a uma reclassificação baseada na análise filogenética das sequências dos genes 16S ARNr e groESL. Como resultado, a família *Rickettsiaceae* atualmente apenas inclui o género *Rickettsia* e, a família *Anaplasmataceae* passou a incluir o género *Ehrlichia*, *Anaplasma* e *Neorickettsia*. Conjuntamente, vários organismos foram renomeados. Por exemplo, *E. phagocytophilum*, *E. platys* e *E. risticii* tornaram-se *A. phagocytophilum*, *A. platys* e *N. risticii*, respetivamente. Adicionalmente, a atual *A. phagocytophilum* inclui os organismos antigamente conhecidos como *E. equi* e *Ehrlichia* granulocítica humana [19, 20, 21, 22, 23].

Presentemente, são reconhecidos os seguintes agentes infecciosos de cães e gatos: *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. ruminantium*, *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *N. risticii*, *N. helminthoeca*, *R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. felis*, *R. akari*, *R. typhi* e *R. prowazekii*. Destes, apenas são endémicos na Europa: *E. canis*, *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *R. conorii*, *R. felis*, *R. akari*, *R. typhi*. *E. canis*, *R. rickettsii* e *N. helminthoeca* são os agentes mais patogénicos para os cães. Contudo, a doença clínica também tem sido descrita em cães infetados com *E. ewingii*, *A. phagocytophilum* e *N. risticii*. As restantes espécies de *Ehrlichia* spp. e *Rickettsia* spp. apenas esporadicamente provocam doença clínica [19, 20, 21, 22, 23].

Os artrópodes, particularmente carraças e pulgas, são vetores da maioria destes agentes mas, alguns membros do género *Neorickettsia* são transmitidos aquando da ingestão de trematodes da subclasse Digenea. No geral, o tempo de fixação da carraça requerido para que ocorra a transmissão das riquetsias varia entre quatro e 24 horas [19, 20, 22].

Dada a extensão deste grupo de organismos, para efeitos desta dissertação, apenas serão referidos aqueles com distribuição na Europa e de importância clínica, nomeadamente *E. canis*, *A. phagocytophilum* e *A. platys*.

*E. canis* e *A. phagocytophilum* são os agentes etiológicos da erlichiose monocítica e da anaplasmoze granulocítica, respetivamente [20, 21, 22].

Estas bactérias, geralmente com um diâmetro inferior a 0,5 µm, são fagocitadas por leucócitos (monócitos ou granulócitos), multiplicam-se dentro de um vacúolo citoplasmático e

formam microcolônias (mórulas), com um a três micrómetros de diâmetro [1, 19]. Ultraestruturalmente, dois tipos morfológicos de bactérias têm sido descritos: *reticulate cells*, as quais estão densamente apertadas dentro do vacúolo citoplasmático; e as *dense-cored cells*, as quais estão mais folgadas dentro do vacúolo citoplasmático. Geralmente uma mórula irá conter apenas um dos dois tipos de bactérias em vez de uma mistura de ambos. Estas diferenças podem explicar a diversidade da aparência das inclusões citoplasmáticas observadas microscopicamente [19].

Como o nome indica, o agente da erlichiose monocítica infeta os leucócitos mononucleares (monócitos, macrófagos e linfócitos), enquanto o agente da erlichiose granulocítica infeta os granulócitos (mais concretamente neutrófilos e eosinófilos) [1, 19].

Embora o gato possa ser infetado experimentalmente com *A. phagocytophilum*, são poucos os casos descritos de infeções naturais até à data. A infeção por *E. canis* não está comprovada uma vez que as tentativas de infeção experimental não tiveram êxito. Foi descrito um único caso de inclusões semelhantes a *A. platys* nas plaquetas de um gato [19, 22, 24].

*Rhipicephalus* sp., *Amblyomma* sp. e *Dermacentor* sp. são os vetores competentes de *E. canis*; *Ixodes* sp. é o vetor competente de *A. phagocytophilum* [19, 22, 24].

*Anaplasma platys* é o único agente infeccioso, descrito em animais, que infeta especificamente as plaquetas [23].

Em termos morfológicos são organismos redondos, ovais ou em forma de feijão. Têm entre 350 nm e 1250 nm de diâmetro e são rodeados por uma dupla membrana [23].

Os vetores mais prováveis de *A. platys* são as carraças, nomeadamente *Rhipicephalus* sp. e *Dermacentor* sp. [23].

Num estudo realizado em Itália em 344 cães obteve-se uma seroprevalência de *A. platys* de quatro por cento [25]. Na Florida e Louisiana até um terço dos cães trombocitopénicos tinham título positivo de anticorpos anti-*A. platys*. No Japão 28% dos animais errantes estavam infetados com *A. platys* (determinado através da técnica de reação em cadeia da polimerase, PCR) [23].

### **2.1.1.2 Patofisiologia e sinais clínicos**

A resposta exacerbada do sistema imunitário está provavelmente envolvida na patogénese e sinais clínicos da erlichiose monocítica e anaplasiose granulocítica. Mais concretamente, os cães infetados demonstram defeitos na função plaquetária, autoaglutinação eritrocitária, produção de anticorpos anti-nucleares e anti-plaquetas e, extensa infiltração de células plasmáticas nos linfonodos, órgãos parenquimatosos e medula óssea. Também têm sido detetados imunocomplexos que provavelmente contribuem para algumas das manifestações clínicas [21].

A apresentação clássica é caracterizada por depressão, letargia, leve perda de peso e anorexia, com ou sem quadros hemorrágicos [22, 24]. Quando presentes, as hemorragias

superficiais consistem em petéquias, equimoses ou ambas. Embora qualquer mucosa possa ser afetada, a epistaxis é a manifestação mais frequente. Adicionalmente a esta apresentação clássica, a uveíte, a polimiosite, a poliartrite e a sintomatologia nervosa, a qual inclui convulsões, ataxia, défices vestibulares e disfunção cerebelar têm sido atribuídas à infeção por estes agentes [21, 22]. Num estudo realizado em 90 cães com erlichiose monocítica, 30 destes apenas manifestaram alterações oculares ao exame físico e 68 dos 90 cães manifestaram uveíte bilateral, sendo a alteração detetada mais comum [26]. As alterações no sistema nervoso central são devidas a meningite, vasculite ou hemorragia das meninges. Desidratação, febre, mialgia, edema periférico, dispneia e secreções oculares e nasais podem também ocorrer [21]. Regra geral, *Anaplasma phagocytophilum* é mais frequentemente associado a poliartrite do que *Ehrlichia canis* [19, 21, 22].

A erlichiose monocítica canina pode ser dividida em três estádios de doença: aguda, subclínica e crónica [21].

O período de incubação é de aproximadamente uma a três semanas. Durante a fase aguda, o organismo multiplica-se dentro dos macrófagos dispersando-se pelo fígado, baço e linfonodos, pelo que pode ocorrer organomegalia. O endotélio vascular é também afetado, desenvolvendo-se vasculite. Os sinais clínicos na fase aguda da doença tipicamente duram duas a quatro semanas. Os pacientes não tratados podem entrar na fase subclínica da doença [21].

Na fase subclínica os animais não exibem qualquer sinal clínico mas, podem ter trombocitopenia leve. Durante esta fase, *E. canis* permanece retida no baço evadindo-se à resposta imunitária através de um conjunto de mecanismos, nomeadamente: inibição da fusão do fagossoma-lisossoma; regulação negativa dos recetores dos complexos de histocompatibilidade maior classe II; e por variação imunogénica dos epítopos do organismo [48]. A fase subclínica pode durar meses a anos [21].

Nem todos os cães infetados progridem para a fase crónica da doença. O prognóstico da erlichiose monocítica crónica pode variar de bom a muito grave. Nesta fase, são frequentes as coagulopatias devidas à trombocitopenia e disfunção plaquetária. Pode ocorrer hipoplasia da medula óssea mas, a mielofibrose não está documentada [21].

Aparentemente, muitos cães expostos seroconvertem sem nunca mostrarem sinais clínicos. Está descrita uma predisposição racial para o desenvolvimento da doença clínica: o pastor alemão, por exemplo, é uma das raças suscetíveis [22].

Relativamente ao *Anaplasma platys*, o período de incubação varia entre oito e 15 dias. O organismo adere à superfície das plaquetas entrando nestas por endocitose. A parasitemia máxima ocorre cerca de quatro dias após o primeiro aparecimento de mórulas, seguida pela queda repentina do número de plaquetas. Durante um episódio de parasitemia o número de plaquetas geralmente desce para valores inferiores a 20.000/ $\mu$ L de sangue e ronda este valor durante um a dois dias. Como este organismo desaparece rapidamente do sangue periférico, o número de plaquetas também aumenta rapidamente, retornando ao normal em três a quatro

dias. A parasitemia e a trombocitopenia são cíclicas em intervalos de aproximadamente 10 a 14 dias. A percentagem de plaquetas infetadas e a gravidade da trombocitopenia diminui com o tempo, resultando eventualmente em trombocitopenia leve autolimitante. A trombocitopenia resulta de dano direto nas plaquetas, devido à replicação das bactérias, e da remoção das plaquetas infetadas por mecanismos imunomediados [19, 23].

Embora a infeção por *A. platys* provoque trombocitopenia, geralmente esta causa doença clínica mínima. Os sinais clínicos variam de mínimos ou inaparentes a graves e incluem, anorexia, letargia, perda de peso, febre, hematoquézia, petéquias, equimoses, epistaxis, uveíte, membranas mucosas pálidas e linfadenopatias [22, 23].

### **2.1.1.3 Diagnóstico**

#### **2.1.1.3.1 Hemograma**

As alterações mais comuns são trombocitopenia, com contagens de plaquetas frequentemente abaixo de 20.000/ $\mu$ L de sangue nas infeções por *A. platys*, e anemia ligeira não regenerativa (normocrómica, normocítica). Quarenta e sete a 90% dos cães infetados com erlichiose monocítica canina apresentam trombocitopenia [21, 22, 23, 24]. Troy e Forrester referiram que aproximadamente 82% dos cães infetados com *E. canis* desenvolvem trombocitopenia [27]. Todavia, cães infetados podem ter contagens de plaquetas normais [22]. Num estudo, cães infetados com *E. canis* ou *A. platys* tiveram um número médio de plaquetas inferior a 100.000/ $\mu$ L três semanas após a infeção, com um subsequente aumento gradual até 130.000-200.000/ $\mu$ L. Os cães infetados com ambos os parasitas tiveram contagens de plaquetas mais baixas e anomalias hematológicas mais graves [28 referido por 23, 29 referido por 23].

Também pode haver leucopenia, linfopenia, neutrofilia, monocitose e linfocitose [21, 22, 23, 24].

A pancitopenia pode ser observada na fase crónica da doença e geralmente é o resultado da hipoplasia de todas as células precursoras da medula óssea [22]. Num estudo de 100 cães com erlichiose, 13% tiveram pancitopenia [30 referido por 21].

#### **2.1.1.3.2 Esfregaço sanguíneo**

As mórulas de *Ehrlichia canis* e *Anaplasma phagocytophilum* tipicamente aparecem como estruturas intracitoplasmáticas granulares basofílicas no interior dos leucócitos (figura 24). Contudo, a visualização de mórulas é rara e não é fulcral para constituir um diagnóstico. A sensibilidade do esfregaço sanguíneo como teste de diagnóstico varia entre zero e 58%. O número de mórulas observado parece estar correlacionado com a gravidade do quadro clínico e a fase da infeção, sendo a probabilidade de deteção das mórulas maior durante a fase aguda e pouco provável durante a fase crónica [1, 19, 21].

A avaliação de esfregaços feitos da *buffy coat* ou do sangue colhido na periferia do pavilhão auricular pode aumentar a sensibilidade da detecção de mórulas [19].

Dado *A. phagocytophilum* infectar os granulócitos e *E. canis* infectar os leucócitos monucleares, as mórulas de *A. phagocytophilum* são geralmente mais numerosas e, conseqüentemente, mais fáceis de detectar do que as mórulas de *E. canis* [19].

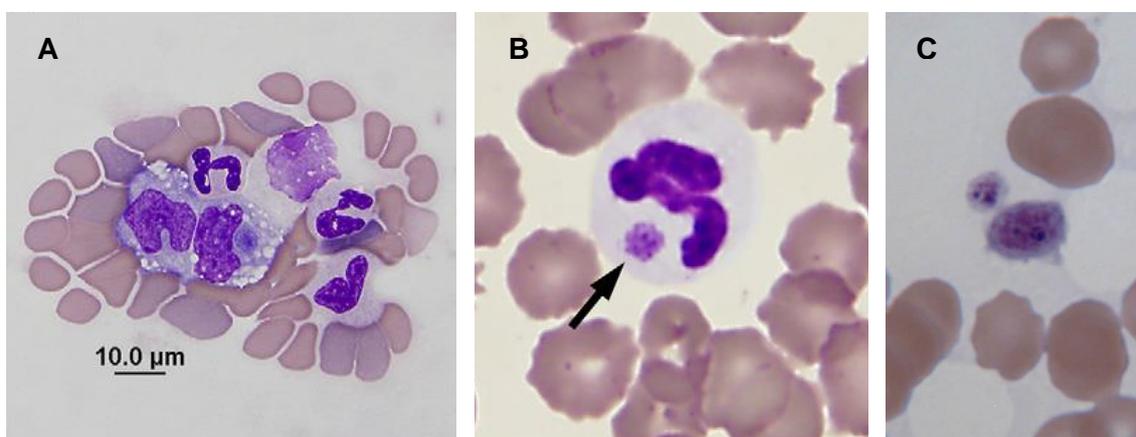
As mórulas de *E. canis* podem ser detectadas, em pequena quantidade, a partir das duas, três semanas pós-infecção. Em contraste, as mórulas de *A. phagocytophilum* podem ser encontradas ao fim de quatro dias após a infecção, em três a 34% dos neutrófilos do sangue periférico. As mórulas de *A. phagocytophilum* têm também sido encontradas no sangue periférico de cães infectados após a administração de doses imunossupressoras de prednisolona [19, 22].

Embora as mórulas de *A. platys* possam ser observadas dentro das plaquetas num esfregaço sanguíneo corado (figura 24), não é um método de diagnóstico sensível uma vez que os organismos geralmente estão presentes em baixo número [19, 23]. Num estudo realizado num hospital veterinário, apenas 21% dos pacientes caninos foram diagnosticados com *A. platys* com base no esfregaço sanguíneo enquanto, 55% eram positivos por PCR [31].

Em infecções experimentais com *A. platys*, as mórulas aparecem 10 a 14 dias depois da inoculação, coincidindo com o começo da trombocitopenia. A percentagem de plaquetas que contêm mórulas diminui com os sucessivos episódios parasitêmicos, tornando a detecção de mórulas mais difícil. A percentagem máxima de plaquetas parasitadas varia entre 30% e 97% mas, diminui para valores inferiores a cinco por cento durante os últimos episódios parasitêmicos [19].

As plaquetas podem possuir mais do que uma mórula e cada mórula pode conter entre um e 15 organismos individuais [19].

É necessário diferenciar as mórulas, as quais coram de azul escuro, dos grânulos normais nas plaquetas, os quais geralmente coram de magenta [19].



**Figura 24-** Esfregaços de sangue de canídeos. Presença de mórulas de organismos da família Anaplasmataceae: (A) *Ehrlichia canis* num monócito; (B) *Ehrlichia* spp. num neutrófilo; (C) *Anaplasma platys* em plaquetas. [Adaptado de 4, 23 e 34].

#### **2.1.1.3.3 Bioquímicas séricas**

As alterações mais comuns incluem hiperproteinemia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e elevação dos enzimas alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA). A hiperproteinemia tem sido observada em aproximadamente 33% dos cães afetados com erlichiose monocítica. A azotemia é menos comum [21, 22].

#### **2.1.1.3.4 Serologia**

O diagnóstico geralmente é baseado na detecção de anticorpos séricos através da imunofluorescência indireta (IFI). Os anticorpos podem ser detectados sete a 28 dias após a infecção, pelo que os sinais clínicos podem manifestar-se antes da produção dos anticorpos. Visto o resultado do teste de IFI poder ser negativo em infecções agudas, em caso de suspeita num cão seronegativo, o teste deve ser repetido duas a três semanas depois, para avaliar a seroconversão [21, 22, 24].

O título de anticorpos, referido pela maioria dos laboratórios, não está necessariamente correlacionado com a duração da infecção ou a gravidade da doença, indicando apenas que houve exposição prévia ao agente [21, 22, 24]. Por exemplo, em áreas endêmicas, muitos cães saudáveis têm títulos séricos positivos para *E. canis* [22]. Um estudo mostrou que 53 de 326 gatos (aproximadamente 16%) eram seropositivos para *A. phagocytophilum* mas, em apenas um foi confirmada a infecção por PCR [32 referido por 24]. Aparentemente alguns cães, e a maioria dos gatos, podem recuperar espontaneamente da infecção, permanecendo no entanto seropositivos. Alguns laboratórios usam diferentes valores de *cut-off* para diferenciar resultados positivos e negativos. Segundo Neer e seus colaboradores (2002), títulos inferiores a 1:80 devem ser considerados suspeitos, sendo os testes serológicos repetidos dentro de duas a três semanas e ponderada a realização de um ensaio de PCR ou *Western immunoblotting* [22].

Os sinais clínicos ou anomalias clinicopatológicas consistentes com erlichiose ou anaplasmose, em conjunto com serologia positiva, devem ser suficientes para o diagnóstico, devendo-se instituir o tratamento [22].

É possível a ocorrência de reações cruzadas entre *A. platys* e *A. phagocytophilum* mas, reações cruzadas entre *A. platys* e *E. canis* parecem não ocorrer [23].

#### **2.1.1.3.5 Técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**

O PCR tem elevada sensibilidade e especificidade na detecção de *E. canis*, *A. phagocytophilum* e *A. platys* [22, 31]. Contudo, Unver e seus colaboradores (2003) referem que os *primers* baseados na sequência 16S ADNr concebidos para identificação de *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp. podem amplificar o ADN de *Wolbachia* sp., resultando em falsos positivos em cães microfilarémicos [33 referido por 34].

Em estudos experimentais, o PCR foi positivo quatro a dez dias após a infecção por *E. canis* [21, 22].

Como os membros da família *Anaplasmataceae* infetam células hematopoiéticas, é possível detetá-los numa variedade de amostras biológicas, incluindo sangue periférico, medula óssea, aspirados tissulares, líquido cefalorraquidiano e líquido sinovial [19, 22]. Dada a natureza cíclica da doença provocada por *A. platys*, a testagem do sangue por PCR pode dar resultados negativos [23].

Concluindo, um resultado PCR positivo confirma a infecção, enquanto um resultado serológico positivo apenas confirma a exposição. Todavia, o PCR deve ser usado em conjunto com a serologia e não em vez desta [22].

#### **2.1.1.4 Terapêutica**

As drogas que mostraram sucesso no tratamento da erlichiose e anaplasmosose incluem: tetraciclina, minociclina, doxiciclina, cloranfenicol, dipropionato de imidocarb, rifampicina e amicarbalida. A tetraciclina e a oxitetraciclina foram consideradas as drogas de primeira linha no passado e ainda são eficazes mas, a doxiciclina e a minociclina são agora usadas mais frequentemente [19, 21, 22].

Recomenda-se a prescrição de doxiciclina na dosagem de 10 mg/Kg, por via oral, cada 24 horas, durante 28 dias; ou 5 mg/Kg, por via oral, cada 12 horas, durante 28 dias. Geralmente, é observada uma melhoria clínica 24 a 48 horas após o início da terapia, coincidindo com um aumento no número de plaquetas, o qual normaliza por volta do 14º dia. A doxiciclina tem melhor penetração no sistema nervoso central e um tempo de semivida mais longo, quando comparada com a tetraciclina. Até à data a doxiciclinina mostrou ser eficaz na eliminação das várias espécies pertencentes à ordem Rickettsiales [19, 22, 23].

Harvey (2006) refere o uso da enrofloxacin quando as tetraciclinas não podem ser administradas [35]. Contudo, em infecções experimentalmente induzidas por *E. canis*, a enrofloxacin mostrou ser ineficaz na eliminação da infecção. Durante o tratamento com enrofloxacin a contagem de plaquetas aumentou inicialmente porém, houve recorrência de trombocitopenia 14 dias após a instituição da terapêutica [21, 22].

O dipropionato de imidocarb, administrado em duas doses de 5 mg/Kg cada, por via intramuscular, separadas por duas a três semanas de intervalo, mostrou ser eficaz na eliminação da infecção [22]. No entanto, numa avaliação feita por Sainz e seus colaboradores (2000), concluiu-se que embora o dipropionato de imidocarb fosse tão eficaz como a doxiciclina na resolução dos sinais clínicos, que o número de plaquetas levava mais tempo a normalizar com o dipropionato de imidocarb do que com a doxiciclina [36]. Noutro estudo foi referida a ineficácia do dipropionato de imidocarb no tratamento de dez cães experimentalmente infetados com *E. canis* [21].

Os outros agentes terapêuticos alternativos têm a seguinte posologia: tetraciclina (22 mg/Kg, por via oral, cada oito horas, durante 21 a 28 dias); minociclina (10 mg/Kg, por via oral, cada 12 horas, durante 21 a 28 dias); cloranfenicol (25-50 mg/Kg, por via oral, cada oito horas, durante 21 a 28 dias) [21, 23].

Em casos de trombocitopenia grave com forte suspeita de uma componente imunomediada pode-se instituir um tratamento com prednisona ou prednisolona, 1-2 mg/Kg, por dia, administrados por via oral, durante dois a sete dias [21, 37]. Alternativamente, pode-se administrar a dexametasona, na dose de 0,1-0,6 mg/Kg, por via oral, cada 24 horas [37].

## **2.1.2 Micoplasmose hemotrófica**

### **2.1.2.1 Agente etiológico**

O principal agente causador de micoplasmose hemotrófica felina é o *Mycoplasma haemofelis*, embora *Mycoplasma haemominutum* e *Mycoplasma turicensis* também possam causar doença em gatos imunodeprimidos ou com alguma patologia concomitante [38, 39].

Nos cães também está descrita esta doença, em muito semelhante com a micoplasmose nos gatos mas, apenas manifesta-se em cães esplenectomizados ou imunodeprimidos, sendo devida à infecção por *Mycoplasma haemocanis* [38].

Estes organismos foram anteriormente classificados no género *Haemobartonella* e *Eperythrozoon*, família *Anaplasmataceae*, ordem Rickettsiales, classe Alphaproteobacteria. No entanto, a sequenciação do gene 16S ARNr dos organismos riquetsiais, veio demonstrar a falta de parentesco molecular e confirmar as diferenças fenotípicas existentes para com as outras riquetsias. Assim, com base nas características moleculares e fenotípicas (pequeno tamanho do parasita e do seu genoma, ausência de flagelo e parede celular, resistência à penicilina e seus análogos, e suscetibilidade à tetraciclina) os géneros *Haemobartonella* e *Eperythrozoon* foram reclassificados no género *Mycoplasma*, família *Mycoplasmataceae*, ordem Mycoplasmatales, classe Mollicutes. A este mais recente grupo de micoplasmas, que têm como alvo os eritrócitos, foi dado o nome trivial de hemoplasmas. O isolado de Ohio (a forma grande) de *Haemobartonella felis* do gato e *Haemobartonella canis* do cão, passaram a ser designados de *Mycoplasma haemofelis* e *Mycoplasma haemocanis*, respetivamente. O isolado da Califórnia (a forma pequena) de *Haemobartonella felis* foi nomeado "Candidatus" *Mycoplasma haemominutum*, tendo recentemente obtido o estatuto efetivo de *Mycoplasma haemominutum* [38, 39, 40].

Os hemoplasmas são bactérias pleomórficas que parasitam extensamente os animais vertebrados. Estes podem assumir a forma de bastonete, esférica ou anelar, sendo encontrados singularmente ou formando cadeias à superfície dos eritrócitos (figura 25) que, no cão (*M. haemocanis*), podem divergir resultando na formação de um Y [38, 39, 40]. A microscopia eletrónica revelou que estes organismos, cujo tamanho é geralmente menor que um micrómetro de diâmetro (0,3-0,8 µm), situam-se em ligeiras depressões ou em fendas mais

profundas na superfície dos eritrócitos, estando o parasita separado do eritrócito por uma zona com 15 nm a 25 nm de espessura; essa zona é frequentemente atravessada por fibrilhas do parasita que o unem à célula hospedeira [38, 40].

O nível de parasitemia em infecções devidas a *M. haemofelis* sofre flutuações amplas e rápidas, podendo o valor de eritrócitos parasitados variar de frequências relativas superiores a 90% para menos de um por cento num espaço temporal inferior a três horas [38, 40].

No gato, estão descritas várias vias de transmissão. Os artrópodes sugadores de sangue, com principal destaque para a pulga, são a principal via de transmissão mas, também pode ocorrer transmissão vertical, via transplacentária, e transmissão horizontal, através da exposição de soluções de continuidade provocadas por lutas à saliva de gatos parasitêmicos. As transfusões de sangue são outra fonte conhecida de infecção [39].

No cão o meio de transmissão natural permanece desconhecido. Os primeiros estudos realizados sobre a matéria não obtiveram sucesso na transmissão através de artrópodes, como o piolho, a pulga e a carraça [38]. Todavia, em 1973 foi publicada a transmissão experimental de *M. haemocanis* a cães esplenectomizados através da carraça *Rhipicephalus sanguineus*. Nesse estudo, Seneviratna e seus colaboradores (1973) descreveram a transmissão transtadial e transovárica na carraça [41]. Tal como no gato, a transmissão através da transfusão sanguínea também foi confirmada [38].

### **2.1.2.2 Patofisiologia e sinais clínicos**

A presença de sintomatologia está diretamente relacionada com a rapidez do desenvolvimento da anemia, grau dessa anemia e da espécie infetante envolvida [96]. Como já foi anteriormente referido, *M. haemofelis* é o principal agente causador da anemia infecciosa felina, enquanto *M. haemominutum* e *M. turicensis* geralmente não causam sinais clínicos [39]. A infecção aguda com *M. haemofelis* resulta numa parasitemia em massa dos eritrócitos, causando anemia grave e, por vezes, fatal [38]. Em oposição, num estudo realizado por Foley e seus colaboradores (1998), gatos saudáveis que foram experimentalmente infetados com *M. haemominutum*, apenas desenvolveram sinais clínicos mínimos e alterações hematológicas insignificantes. Nesse mesmo estudo, o hematócrito baixou ao longo do curso da infecção embora, nunca tenha caído abaixo do intervalo de referência do gato [42].

Embora o organismo exerça danos diretos sobre a membrana celular dos eritrócitos, a hemólise imunomediada aparenta ser o principal fator que contribui para o desenvolvimento da anemia. A ligação do hemoplasma à membrana do eritrócito pode expor antígenos eritrocitários ocultos, ou mesmo alterar os antígenos já expostos dos eritrócitos, desencadeando uma resposta imunitária contra os próprios eritrócitos e consequente hemólise. Esta capacidade de alteração da superfície antigénica dos eritrócitos permite igualmente a libertação periódica do hemoplasma da sua célula hospedeira. Este mecanismo favorece a sobrevivência do próprio hemoplasma e, inerentemente, contribui para o desenvolvimento do

estado de portador nos animais. Muitos eritrócitos parasitados são aprisionados no baço, fígado, pulmões e medula óssea, e quando eliminados os parasitas pelos macrófagos, retornam à circulação [38, 39, 40].

Na micoplasmose hemotrófica podem ser descritas quatro fases da doença: fase pré-parasitêmica, fase aguda, fase de recuperação e fase de portador [39].

A fase pré-parasitêmica corresponde ao período de incubação, cuja duração é de uma a três semanas [39].

A fase aguda equivale ao período que decorre entre o primeiro episódio de parasitemia até ao último grande episódio parasitêmico e pode durar um mês ou mais [40]. Durante esta fase, a parasitemia descreve uma ciclicidade temporal, podendo os hemoplasmas desaparecer e reaparecer no sangue numa questão de horas ou dias [39].

Uma vez estabelecida uma resposta adequada do sistema imunitário e uma resposta regenerativa da medula óssea, os sinais clínicos são atenuados, tendo início a fase de recuperação. Nesta fase, embora um baixo número de organismos possa ser observado no sangue periférico, o hematócrito estabiliza dentro do intervalo de referência [39].

Os animais que recuperam podem tornar-se portadores durante meses ou ao longo de toda a vida (fase de portador). Os animais portadores muito provavelmente atingem um estado de equilíbrio no qual a replicação dos hemoplasmas é compensada pela fagocitose e remoção dos organismos. As reincidências da doença podem ocorrer em situações de imunodepressão [39].

Os sinais mais comumente encontrados no exame clínico são depressão, letargia, anorexia, taquipneia, taquicardia, fraqueza, perda de peso, desidratação, esplenomegalia, icterícia, membranas mucosas pálidas e linfadenopatia. Pode também ser detetada febre. No entanto, é necessário ter presente que essa pirexia é intermitente e associada ao grau de parasitemia, pelo que pode não estar patente aquando do exame clínico. Em quadros mais graves estão descritas alterações no comportamento, ataxia, astenia, parésia, convulsões, sopro cardíaco, pulso fraco, caquexia, hipotermia, diarreia, náusea, vômito, hemorragias, hepatite e hepatomegalia [38, 39, 40].

### **2.1.2.3 Diagnóstico**

#### **2.1.2.3.1 Hemograma**

A anemia devida a *M. haemofelis* é tipicamente regenerativa, com anisocitose, macrocitose, hipocromasia e reticulocitose. Contudo, a resposta regenerativa pode não ser notada durante vários dias após o desenvolvimento da anemia. A gravidade da anemia depende do estágio da infeção, sendo que ao nadir do hematócrito corresponde o pico de parasitemia; geralmente o hematócrito é inferior a 20% mas, pode atingir valores inferiores a 10% [38, 39, 40].

A concentração leucocitária pode estar normal, aumentada ou diminuída [40].

### 2.1.2.3.2 Avaliação do esfregaço sanguíneo

Os esfregaços de sangue periférico podem ser examinados para procurar a presença de micoplasmas hemotróficos. Porém, *M. haemofelis* é apenas encontrado em 50% dos esfregaços sanguíneos obtidos durante a fase aguda da doença e *M. haemominutum* raramente é observado nos esfregaços sanguíneos rotineiros [39, 40].

Perante a eventual detecção de hemoplasmas, estes devem ser cuidadosamente diferenciados de precipitados de corante, corpos de Howell-Jolly, pontilhado basofílico e outros parasitas. O novo azul de metileno não deve ser usado aquando desta avaliação, uma vez que impossibilita a diferenciação dos hemoplasmas dos precipitados de ribossomas nos reticulócitos *punctata* [39].

É de salientar que durante o acondicionamento do sangue em EDTA, os organismos podem libertar-se dos eritrócitos (figura 25) [39, 40].

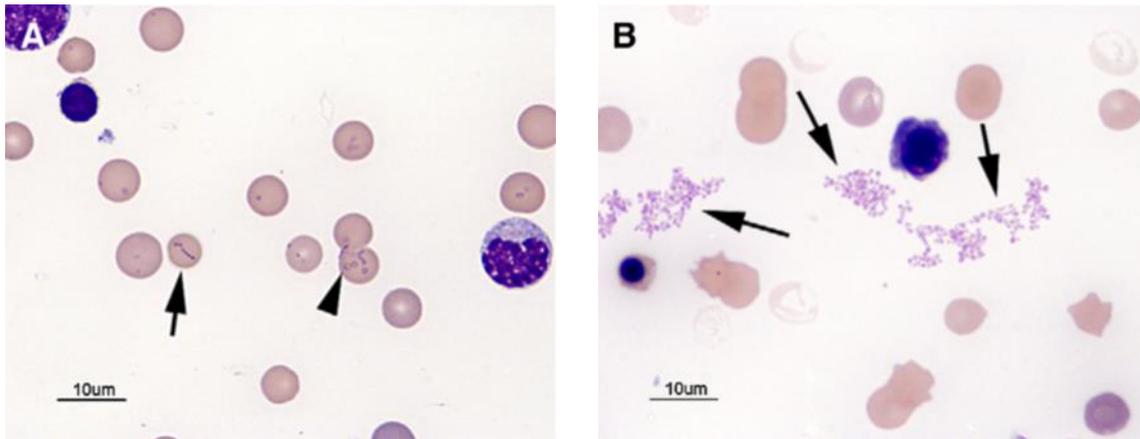
Uma vez instituída a antibioterapia, a detecção dos organismos torna-se ainda mais difícil, pois estes tendencialmente desaparecem durante o tratamento [39].

Dada a existência de todos estes fatores que podem condicionar a detecção dos hemoplasmas no esfregaço sanguíneo, o diagnóstico de micoplasmose hemotrófica não deve ser excluído mesmo quando não são detetados os parasitas. Além disso, deve-se estar atento para a observação de outros indícios de infeção no esfregaço sanguíneo, que embora não sejam tão diretos como a detecção do agente etiológico, fornecem muita informação e dão pistas valiosas para a constituição do diagnóstico [39].

Tendo em conta que as anemias provocadas por *M. haemofelis* são tipicamente regenerativas, deve-se estar vigilante para a presença de macrocitose e policromatófilos, que são indicativos de regeneração embora, como já tenha sido referido anteriormente, são precisos alguns dias, após a instalação da anemia, para que essa resposta seja desencadeada e se verifique no esfregaço sanguíneo. A anisocitose, a hipocromasia, as células vermelhas nucleadas e os corpos de Howell-Jolly podem igualmente ser encontrados no esfregaço sanguíneo, embora não sejam indicadores fidedignos de regeneração em gatos. Os gatos infetados com *M. haemominutum* ou *M. turicensis* geralmente não têm anemia, ou apenas têm anemia ligeira. Em infeções crónicas a anemia pode estar ausente [39, 40].

### 2.1.2.3.3 Bioquímicas séricas

No que diz respeito às bioquímicas séricas, a hiperbilirrubinemia pode estar presente devido à hemólise (primariamente extravascular). Porém, devido ao sequestro de eritrócitos no baço, a quantidade de bilirrubina pode estar dentro do intervalo de referência mesmo quando o valor do hematócrito desce rapidamente. Os valores dos enzimas ALT e aspartina aminotransferase (AST) podem estar aumentados devido a hipoxia hepática secundária à anemia ou devido a lipidose hepática secundária. A uremia elevada geralmente está associada à desidratação. A hiperglobulinemia e a hipoglicemia podem também ser observadas [39, 40].



**Figura 25-** Esfregaços de sangue de felídeo infetado com *Mycoplasma haemofelis*. Esfregaço feito imediatamente após a colheita (A): presença de numerosos parasitas associados aos eritrócitos, incluindo formas em anel (ponta de seta) e em cadeia (seta). Esfregaço da mesma amostra sanguínea mas, executado algum tempo (inferior a 24 horas) após a colheita e acondicionamento (B): não são evidentes parasitas nos eritrócitos; os organismos são observados na matriz extracelular como agregados de material granular cor-de-rosa (setas). [Adaptado de 43].

#### 2.1.2.3.4 Técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

O meio de diagnóstico complementar de eleição é a técnica de PCR [94]. Todos os ensaios de PCR desenvolvidos até à data para deteção dos micoplasmas hemotróficos são baseados no gene 16S ARNr [38, 39, 40].

Atualmente existem dois ensaios distintos de PCR: um deteta *M. haemofelis* e *M. haemocanis*, e outro deteta *M. haemominutum* [38].

Messick (2003), fazendo uso destes dois ensaios de PCR em 250 gatos, descobriu que 21,8% dos gatos anémicos estavam infetados com micoplasmas hemotróficos (14,6% com *M. haemofelis* e 7,2% com *M. haemominutum*), estando 6,5% dos gatos não anémicos também infetados (1,3% com *M. haemofelis* e 5,2% com *M. haemominutum*); a prevalência de infeção por hemoplasmas em todos os gatos testados foi cerca de 18% [38]. Noutro estudo, efetuado por Jensen e seus colaboradores (2001), os resultados foram similares: 28% dos gatos testados com suspeita da infeção foram positivos para micoplasmas hemotróficos; dos gatos com anemia 17% foram positivos para *M. haemofelis* e 11% para *M. haemominutum* e ainda, 13,7% dos gatos sem sinais de anemia foram positivos para *M. haemominutum*; a prevalência total de infeção em suspeitos e não suspeitos foi de 19,5% [44]. Outro estudo obteve que 18,5% dos gatos eram PCR positivos para micoplasmas hemotróficos no entanto, 94% desses resultados eram devidos a *M. haemominutum* [45].

O teste de PCR geralmente confere resultados positivos quatro a quinze dias após a infeção, com o pico de sensibilidade entre as duas e quatro semanas [39].

A técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) possibilita a quantificação de ácido desoxirribonucleico (ADN) dos parasitas, pelo que pode ser usada para efeitos de monitorização do curso da infeção [39].

É de salientar que os gatos que estão a tomar antibiótico podem tornar-se PCR negativos poucos dias após iniciar o tratamento. Todavia, depois do tratamento (três a 35 dias), podem reverter para um teste positivo sem sinais clínicos de infecção notórios. Deste modo, um teste de PCR negativo para amostras de sangue obtidas durante ou após um curto período de tratamento, não descarta a possibilidade de infecção crónica [38].

#### **2.1.2.4 Terapêutica**

Embora os hemoplasmas sejam sensíveis à tetraciclina, o seu uso não é corrente, pois deve ser administrada cada oito horas e no gato pode induzir pirexia [39].

A doxiciclina é atualmente o antibiótico mais usado no tratamento da micoplasmose hemotrófica. A dosagem indicada é de 5 mg/Kg, administrados oralmente cada 12 horas, durante 21 dias ou, alternativamente, 10 mg/Kg, administrados oralmente cada 24 horas, durante 21 dias. Os efeitos secundários gastrointestinais causados pela irritação da mucosa podem resultar em desconforto abdominal, vômito e anorexia no gato e no cão. Também estão descritos casos de esofagite que evoluem para estenose esofágica no gato, daí ser importante garantir que o composto fique o mínimo de tempo possível retido no esófago, o que muitas vezes se consegue pela simples administração de alimento e água imediatamente após o antibiótico [38, 40].

Das fluoroquinolonas, a enrofloxacina (5-10 mg/Kg, administrados por via oral, cada 24 horas, durante 14 dias) mostrou ter eficácia equivalente ou superior à doxiciclina no tratamento de infeções por hemoplasmas em gatos. A dose diária única e a baixa incidência de efeitos secundários quando comparada com a doxiciclina tornam o seu uso atrativo. Porém, não se pode descorar a possibilidade de causar degenerescência da retina em gatos [38, 40].

Embora os gatos infetados evoluam positivamente relativamente à anemia quando tratados com marbofloxacina (2,75 mg/Kg, administrados por via oral, cada 24 horas, durante 14 dias), esta fluoroquinolona não é a mais indicada uma vez que pode não eliminar a infecção de forma efetiva [39].

Mais recentemente, Dowers e seus colaboradores (2009) referiram que a pradofloxacina pode ser uma boa opção terapêutica em alternativa à doxiciclina [46].

A azitromicina e o dipropionato de imidocarb não são efetivos na eliminação da infecção [38, 39, 40].

O cloranfenicol foi anteriormente recomendado como tratamento, todavia, o seu uso é contestado devido ao risco de hipoplasia eritróide secundária [39].

É de salientar que os antibióticos podem reduzir ou eliminar a parasitemia mas, não eliminam completamente o parasita do organismo. A maioria dos gatos torna-se portadora do parasita [38, 39].

O uso de glucocorticoides (prednisona, 1-2 mg/Kg, por via oral, cada 12 horas) deve ser reservado a casos de anemia grave com fraca resposta à antibioterapia, sendo a dosagem gradualmente diminuída com o aumento do hematócrito [38, 40].

## **Infeções parasitárias**

### **2.1.2 Babesiose**

#### **2.1.2.1 Agente etiológico**

A babesiose ou piroplasmose é uma doença parasitária causada por várias espécies de protozoários do género *Babesia* (ordem Piroplasmida) [47, 48].

O merozoito ou piroplasma (forma infetante) infeta os eritrócitos dos mamíferos resultando em anemia hemolítica [48].

Os ixodídeos são os vetores biológicos destes agentes, embora a transmissão vertical (via transplacentária) e a transmissão horizontal, quer através de transfusão sanguínea, quer através soluções de continuidade devidas a mordedura de cães infetados, também ocorram para determinadas espécies de *Babesia* spp. A carraça deve permanecer fixada dois a três dias para que a transmissão possa ocorrer. Tanto a transmissão transtesticular como transovárica estão descritas e acredita-se que as carraças permaneçam infetantes durante várias gerações [47, 48].

Uma vez no sangue, o organismo multiplica-se assexuadamente dentro dos eritrócitos circulantes, determinando a hemólise intravascular e extravascular [48].

O período de incubação é de 10 a 21 dias [48].

O tamanho dos estádios intra-eritrocitários em forma de pêra (piroplasmas) tem tradicionalmente sido utilizado para identificação das espécies de *Babesia* em cães. Assim, temos grandes piroplasmas, *Babesia canis* (3-5 µm) e pequenos piroplasmas, *Babesia gibsoni* (0,5-2,5 µm). As técnicas moleculares, para além de diferenciarem os agentes pequenos e grandes da piroplasmose canina, permitem a identificação de piroplasmas geneticamente distintos [47, 48].

Essa distinção é essencial para efeitos de diagnóstico e tratamento uma vez que, o espectro de ação das drogas correntemente usadas não abrange todos os agentes de babesiose, para além da virulência da espécie infetante ser determinante para a constituição do prognóstico [47, 48].

A babesiose felina resulta da infeção por *Babesia felis* e tem vindo a ser descrita em gatos domésticos residentes maioritariamente na África do Sul mas, também na Índia, Israel, Espanha e Portugal. Na Florida, tem sido identificada em felinos selvagens, podendo ser uma questão de tempo até ser identificada nos gatos domésticos da América do Norte [49]. Schoeman e seus colaboradores (2001) estudaram gatos com babesiose na África do Sul e concluíram que não havia predisposição racial ou sexual mas, que havia uma aparente predisposição em gatos jovens (com menos de três anos de idade) [50].

Presentemente são conhecidos os seguintes agentes de babesiose no cão: *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi* e a ainda não nomeada *Babesia* sp. (grandes piroplasmas); *Babesia gibsoni*, *Babesia conradae* e *Babesia annae* (antigamente *Theileria annae*) (pequenos piroplasmas) [47].

*Babesia canis* tem merozoítos grandes em forma de pêra, os quais possuem quatro a cinco micrómetros de comprimento e são frequentemente observados aos pares dentro dos eritrócitos. As suas três subespécies diferem em termos genéticos, biológicos e geográficos [48].

*Babesia canis canis* é o principal agente etiológico de babesiose nas regiões temperadas da Europa, causando doença leve a grave mas, tem sido igualmente identificado no continente americano. O vetor biológico competente deste agente é o *Dermacentor reticulatus* [47, 48].

*Babesia canis vogeli*, a subespécie menos virulenta, está também presente na Europa, bem como nas áreas tropicais ou subtropicais da África, Ásia, Austrália, e norte e sul da América. Antigamente acreditava-se que a doença clínica era exclusiva de cachorros ou cães esplenectomizados porém, a mesma está descrita em animais adultos. *Babesia canis vogeli* é transmitida por *Rhipicephalus sanguineus* [48].

*Babesia canis rossi* é notoriamente a subespécie mais virulenta e é endêmica no oeste, este e sul de África, não tendo sido descrita fora do continente africano. Os cães que são infetados com esta subespécie desenvolvem babesiose, a qual pode ser “não complicada”, caracterizada por anemia, febre e esplenomegalia, ou “complicada”, caracterizada por falência orgânica de um ou mais sistemas (sistema nevoso central, rins, fígado, coração, pulmões, pâncreas). *Babesia canis rossi* é transmitida por *Haemophysalis leachi* [47, 48].

*Babesia* sp., geneticamente relacionada com a *Babesia bigemina* dos bovinos, tem sido descrita em animais esplenectomizados e imunodeprimidos na Carolina do Norte [47].

*Babesia gibsoni* tem distribuição global e é atualmente o principal agente de babesiose nos Estados Unidos da América. O seu merozoíto tem uma forma redonda a oval com cerca de três micrómetros de comprimento. Além do papel de *Rhipicephalus sanguineus* na propagação deste agente, a transmissão de cão para cão, através de feridas por mordedura, está fortemente suportada por evidências epidemiológicas. Este parasita tem também transmissão transplacentária [47, 48].

*Babesia conradae* até à data foi unicamente descrita na Califórnia e muito pouco é conhecido a respeito deste piroplasma [48].

*Babesia annae* foi previamente classificada como *Theileria annae*. Contudo, dada a sua proximidade filogenética com o agente zoonótico *Babesia microti*, e na ausência de evidências de estádios pré-eritrocitários nos leucócitos (característica do ciclo de vida de *Theileria* spp.), foi reclassificada para o género *Babesia* [47]. De acordo com Camacho-García (2006), os animais infetados com *Babesia annae* desenvolvem uma síndrome clínica mais grave do que quando infetados com *B. canis* [51]. *B. annae* é endêmica na Galiza, noroeste de Espanha

mas, também foi esporadicamente encontrada em cães assintomáticos na Croácia e Mississippi [47, 51].

A babesiose canina é endêmica no norte de Portugal. Noventa e seis por cento dos casos de babesiose em Portugal caracterizados molecularmente são devidos a *B. canis canis* e apenas quatro por cento são devidos a *B. canis vogeli* [52, 53]. Simões e seus colaboradores (2011) identificaram o primeiro surto de babesiose devida a *Babesia annae* em Portugal, em 2009 [47].

### **2.1.2.2 Patofisiologia e sinais clínicos**

A babesiose canina pode variar de subclínica a grave, ou mesmo ser fatal [47]. Os sinais podem ser agudos, hiperagudos, ou crônicos. E alguns animais portadores não têm qualquer sintomatologia [48].

Essa diversidade de apresentações clínicas, para além de depender da suscetibilidade do hospedeiro, é em grande parte devida à virulência do agente patogénico, a qual está implícita no património genético do piroplasma. Porém, a anemia, a trombocitopenia, a febre e a esplenomegalia são alterações gerais comuns à babesiose, independentemente do genótipo do organismo infetante [47, 48].

As manifestações clínicas mais frequentes são letargia, anorexia, membranas mucosas pálidas, hipertermia, hemoglobinúria, esplenomegalia, anemia hemolítica e trombocitopenia. As membranas mucosas pálidas, a icterícia e a hemoglobinúria são resultantes da hemólise. A esplenomegalia e, eventualmente a hepatomegalia, são devidas à congestão e destruição dos eritrócitos [47, 48].

O mecanismo relacionado com a anemia hemolítica possivelmente está mais dependente da resposta imunitária do hospedeiro do que da destruição direta dos eritrócitos pelo piroplasma. A coagulopatia intravascular local ou sistémica, a destruição imunomediada das plaquetas, ou o aprisionamento de plaquetas no baço podem estar implicados nas trombocitopenias graves [47, 48].

O desenvolvimento de disfunção biliar, insuficiência renal aguda, dispneia, pancreatite aguda, alterações cardíacas e hipoglicemia têm sido associados a piores prognósticos. Nos gatos a taxa de mortalidade varia entre 15% e 20% [48, 49].

### **2.1.2.3 Diagnóstico**

#### **2.1.2.3.1 Hemograma**

A anemia, leve a grave, é geralmente regenerativa a menos que os sinais sejam agudos mas, pode tornar-se não regenerativa. Uma policitemia também pode ser observada [48, 49]. Num estudo de 56 gatos com babesiose, 57% dos gatos apresentaram anemia regenerativa (hipocrômica, macrocítica) [50].

A trombocitopenia, moderada a grave, é bastante comum, sendo que alguns animais com babesiose desenvolvem trombocitopenia sem anemia [47, 48].

A contagem leucocitária pode exibir valores normais, leucopenia, ou leucocitose, podendo alcançar valores compatíveis com resposta leucemóide [47, 48].

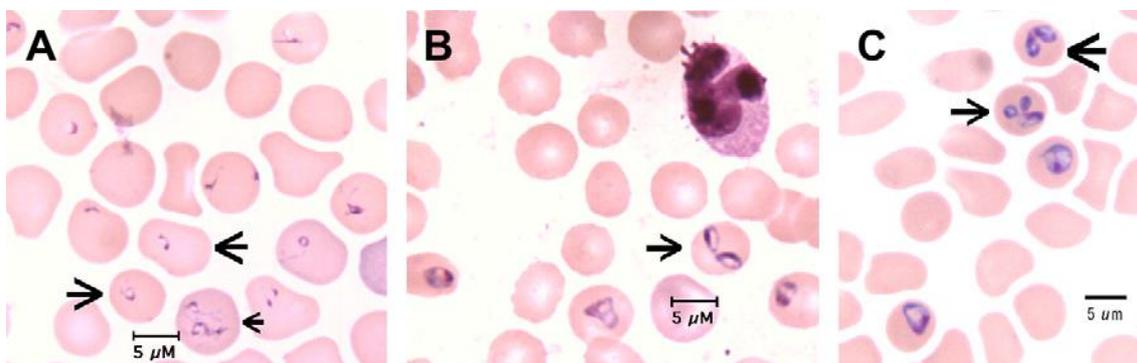
### 2.1.2.3.2 Esfregaço sanguíneo

Aquando do exame do esfregaço sanguíneo podem ser detetadas alterações compatíveis com anemia regenerativa, mais concretamente policromasia, anisocitose, células vermelhas nucleadas e corpos de Howell-Jolly. Pode também ser observada autoaglutinação, estando descrito que cerca de 16% dos gatos com babesiose apresentam autoaglutinação [47, 48, 49].

A detecção de piroplasmas num esfregaço sanguíneo pode carecer de sensibilidade devido à baixa parasitemia [47].

O exame do esfregaço sanguíneo é útil para distinguir grandes de pequenos piroplasmas porém, as ferramentas de diagnóstico molecular, como o PCR e a sequenciação de ADN, são métodos mais adequados, providenciando uma identificação específica das espécies, subespécies ou genótipo [47].

Na figura 26 estão presentes eritrócitos parasitados com *Babesia* spp.



**Figura 26-** Esfregaços sanguíneos de canídeos infetados com *Babesia* spp.: (A) *Babesia gibsoni* é caracterizada pelas formas em anel e ovais dos pequenos piroplasmas (setas) mas, também podem exibir outras formas na qual os merozoítos aparentam ter um citoplasma filamentosos (seta pequena). (B) À semelhança das outras espécies de grandes piroplasmas, *Babesia canis* tipicamente aparece aos pares dentro dos eritrócitos (seta). (C) Presença de piroplasmas de *Babesia* sp. da Carolina do Norte aos pares (seta grande) e em divisão (seta pequena). Coloração de Giemsa. Magnificação original de 1000X [54].

### 2.1.2.3.3 Bioquímicas séricas

As alterações nas bioquímicas séricas incluem azotemia, hiperbilirrubinemia, hemoglobinemia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, hipercolestrolemia, hipoglicemia, hipermagnesiemia, hiperfosfatemia e baixo nível de cálcio ionizado. O aumento da ALT e da AST também está descrito [47, 48].

Num estudo concebido por Camacho e seus colaboradores (2004), em 58 cães infectados com *Babesia* spp., 36% estavam azotêmicos na altura do diagnóstico e 22% morreram com azotemia, sendo a principal causa de mortalidade [55].

Noutro estudo, obteve-se que a hipoglicemia teve uma prevalência geral de nove por cento, aumentando para 20% nos pacientes hospitalizados. Nos pacientes hospitalizados, foi registada hipoglicemia grave (inferior a 40 mg/dL) em aproximadamente seis por cento dos cães. Os fatores de risco para hipoglicemia incluem: anemia grave, icterícia, idade inferior a seis meses e vômito [48].

#### **2.1.2.3.4 Serologia**

O meio de diagnóstico de uso corrente nos laboratórios veterinários é a IFI. Alguns testes detetam a presença inespecífica de anticorpos anti-*Babesia* spp. mas, atualmente estão disponíveis testes específicos para *B. canis* e *B. gibsoni*. Situações de babesiose subclínica, crónica ou recrudescente podem ser confirmadas serologicamente. Contudo, em alguns casos de infeção aguda, os testes serológicos podem não ser úteis no diagnóstico de babesiose, uma vez que cachorros ou animais debilitados são provavelmente seronegativos [54].

#### **2.1.2.3.5 Técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**

A técnica de PCR além de ser a ferramenta de diagnóstico de babesiose com maior sensibilidade, é imprescindível para identificação da espécie infetante e inerente seleção do agente terapêutico mais apropriado. A identificação da espécie é também importante para determinação da virulência do agente patogénico, a qual é por sua vez indispensável para a constituição de um prognóstico fidedigno. Em dados de sangue acresce ainda o facto do PCR possibilitar a deteção de infeções subclínicas [47].

#### **2.1.2.4 Terapêutica**

Uma vez que até à data nenhum tratamento é efetivo na eliminação de todas as espécies de piroplasmas e porque os custos podem variar consideravelmente, deve-se sempre averiguar qual a espécie infetante [48].

O agente terapêutico de eleição para infeções com *Babesia canis* é o dipropionato de imidocarb, embora também esteja descrita a eficácia do diaceturato de diminazeno [48].

A posologia do dipropionato de imidocarb consiste em duas administrações de 6,6 mg/Kg cada, por via intramuscular, separadas por duas semanas de intervalo. Em algumas situações, quando o paciente não exhibe a resposta esperada, é recomendada uma terceira administração na mesma dosagem. O dipropionato de imidocarb é a única droga aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) no tratamento da babesiose canina. Embora reduza a morbidade, a mortalidade e a parasitemia nas infeções por *B. gibsoni*, não elimina a infeção por esta espécie. Os efeitos secundários incluem dor no local da injeção e efeitos colinérgicos

(hipersialia, lacrimação, periúria, diarreia). A administração prévia de atropina (0,02 mg/Kg, por via subcutânea, 30 minutos antes da administração do imidocarb) reduz os efeitos colinérgicos [48].

O diaceturato de diminazeno pode ser administrado numa única dose de 3-7 mg/Kg, por via intramuscular. À semelhança do dipropionato de imidocarb, reduz a morbilidade, mortalidade e parasitemia nas infeções por *B. gibsoni* mas, não elimina a infeção. Os efeitos secundários são também similares aos do imidocarb. A administração de uma dose superior a 10 mg/Kg pode ser letal [48].

Nas infeções por *Babesia gibsoni* pode-se optar por um dos dois protocolos terapêuticos: combinação de atovaquona com azitromicina; ou combinação de clindamicina com diminazeno e imidocarb [48].

O primeiro consiste na administração de atovaquona (13,5 mg/Kg, administrados oralmente, juntamente com refeições gordas, cada oito horas, durante 10 dias) em combinação com azitromicina (10 mg/Kg, por via oral, cada 24 horas, durante 10 dias). Num estudo, esta combinação mostrou ser efetiva em 83% dos cães tratados [56] embora, mais recentemente, num estudo onde se procurou aferir a eficácia dos dois protocolos terapêuticos, a mesma combinação de atovaquona com azitromicina tenha sido eficaz em apenas 54% dos casos [57 referido por 48].

O segundo consiste no uso conjunto de clindamicina (25 mg/Kg, administrados oralmente, cada 12 horas, durante 14 dias), diminazeno (3-7 mg/Kg, por via intramuscular) e imidocarb (6,6 mg/Kg, por via intramuscular). Esta combinação mostrou uma taxa de recuperação maior (84%) e uma taxa de recidiva menor quando comparada com o uso de atovaquona e azitromicina [57 referido por 48].

O uso concomitante de doxiciclina (5 mg/Kg, por via oral, cada 12 horas), clindamicina (25 mg/Kg, por via oral, cada 12 horas) e metronidazol (15 mg/Kg, por via oral, cada 12 horas) pode ser efetivo na eliminação de infeções por *B. gibsoni*. Contudo, estudos adicionais necessitam de ser efetuados para determinação da duração da antibioterapia [48].

Também a combinação de doxiciclina (5 mg/Kg, por via oral, cada 12 horas), enrofloxacina e metronidazol (15 mg/Kg, por via oral, cada 12 horas) tem mostrado resultados promissores na eliminação da infeção por *B. gibsoni*. Lin e Huang (2010), utilizando esta combinação de antibióticos em cães infetados com *B. gibsoni*, obtiveram uma eficácia terapêutica de 83,3%. Quando a esse protocolo foi adicionado o diaceturato de diminazeno (administrado por via intramuscular) a eficácia foi de 85,7%. Deste modo, pode-se concluir que a administração adicional de diaceturato de diminazeno não aumentou significativamente a eficácia do tratamento. O tempo médio de recuperação foi de 24,2 dias porém, mais investigações carecem de ser efetuadas para determinação da duração da antibioterapia [58 referido por 48].

Nos gatos é preferível usar o fosfato de primaquina no tratamento de babesiose. Estão descritas as seguintes posologias: 0,5 mg/Kg, administrados por via oral, cada 24 horas,

durante um a três dias; 1,0 mg de fosfato de primaquina (dose total por gato), administrado por via oral, cada 36 horas, num total de quatro administrações, passando para 1,0 mg (dose total por gato), cada sete dias, até quatro administrações; ou 1,0 mg/Kg de fosfato de primaquina, numa única administração por via intramuscular [59]. É de salientar que o intervalo de segurança desta droga em gatos é muito estreito. Quando administrada oralmente, deve ser dada juntamente com alimento de forma a prevenir o vômito [49].

Alguns antibióticos ou combinações de antibióticos podem atenuar a sintomatologia. Deste modo, é proveitoso ponderar o seu uso enquanto se aguarda pelo resultado do PCR [56].

A doxiciclina (10 mg/Kg/dia, por via oral, durante 14 dias) reduz a sintomatologia clínica e está relacionada com a diminuição da morbidade e mortalidade [56].

O uso da clindamicina (25 mg/Kg, por via oral, cada 12 horas, durante 14 dias) foi também associado à redução das alterações clínicas, hematológicas e bioquímicas na babesiose canina [56].

É de salientar que apesar da anemia e da trombocitopenia serem frequentemente imunomediadas, o emprego de drogas imunossupressoras não é recomendado, a menos que a hemólise persista mesmo sob ação da terapia antiprotozoária. Os casos tratados com cursos longos de drogas imunossupressoras previamente à terapia específica tendem a ter uma fraca resposta ao tratamento [48].

### **2.1.3 Hepatozoonose**

#### **2.1.3.1 Agente etiológico**

A hepatozoonose é uma doença parasitária causada por protozoários do género *Hepatozoon*. No cão estão descritas duas espécies infetantes: *Hepatozoon canis* e *Hepatozoon americanum* [158]. Os casos de infeção por *H. americanum* estão restritos aos Estados Unidos da América, enquanto a infeção por *H. canis* tem sido descrita um pouco por todo o mundo, nomeadamente no Japão, Filipinas, Argentina, Brasil, Estados Unidos da América, Israel, Portugal, Espanha, França, Itália, Grécia e continente africano [60].

No gato, a doença é rara e ainda pouco estudada, desconhecendo-se espécies infetantes e não havendo casos descritos na península ibérica, razão pela qual não será abordada na presente dissertação [61].

*H. canis* e *H. americanum* diferem em termos de virulência, localização dos estádios parasitários no hospedeiro e suscetibilidade aos antiprotozoários [60]. Como *H. americanum* está aparentemente limitado à América do Norte e por ser impraticável no contexto desta dissertação abordar convenientemente todos os hemoparasitas, a informação subsequente refere-se à hepatozoonose causada por *H. canis*.

O cão e a carraça *Rhipicephalus sanguineus* exercem o papel de hospedeiro intermediário e hospedeiro definitivo, respetivamente, no ciclo de vida de *H. canis*. A infeção no

cão é adquirida através da ingestão de uma carraça infetada com oocistos esporulados. Uma vez no trato gastrointestinal do cão, os esporozoítos contidos no oocisto são libertados, penetram a parede intestinal e entram na circulação sanguínea ou linfática, sendo transportados para o baço, fígado, medula óssea, linfonodos, pulmões e pâncreas dentro de células mononucleares fagocíticas. A merogonia desenvolve-se nas células desses órgãos, desencadeando uma reação inflamatória localizada. Cerca de quatro semanas após a infeção, podem ser detetados gamontes (de forma oval com 11 x 5 µm) dentro do citoplasma de neutrófilos e monócitos no sangue periférico [54, 60].

A transmissão vertical de *H. canis* também está descrita [54].

### 2.1.3.2 Patofisiologia e sinais clínicos

A maioria dos cães com gametócitos circulantes de *H. canis* é assintomática. Contudo, os cães com parasitemia grave ou infeções concorrentes podem exibir febre, caquexia, letargia, anemia, esplenomegalia, hepatomegalia e linfadenomegalia [60].

A formação de esquizontes não ocorre no tecido muscular estriado e não está associada com inflamação dos tecidos envolventes [60].

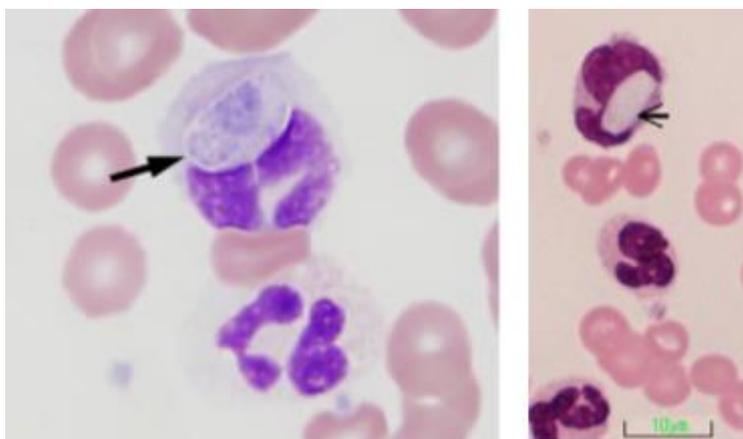
### 2.1.3.3 Diagnóstico

#### 2.1.3.3.1 Hemograma

As alterações podem incluir anemia leve e trombocitopenia. Leucocitose associada a neutrofilia marcada e, em alguns casos, monocitose e eosinofilia, são indicativas de parasitemia elevada [60].

#### 2.1.3.3.2 Esfregaço sanguíneo

Os gamontes (figura 27) podem ser detetados num esfregaço sanguíneo de sangue periférico por volta das quatro semanas pós-infeção [54]. Os gametócitos podem infetar 20% a 60% dos leucócitos. A sensibilidade pode ser aumentada ao substituir o sangue inteiro pela *buffy coat* na execução do esfregaço [60].



**Figura 27-** Esfregaços sanguíneos de canídeos. Presença de gamontes intracelulares (setas) de *Hepatozoon* sp. no citoplasma de neutrófilos. [Adaptado de 4 e 54].

#### **2.1.3.3.3 Bioquímicas séricas**

As alterações podem incluir FA e creatinina quinase elevadas, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia [60].

#### **2.1.3.4 Terapêutica**

A terapia específica consiste na administração de dipropionato de imidocarb, 5 mg/Kg, por via subcutânea ou intramuscular, num total de duas administrações separadas por 14 dias de intervalo [60].

Em caso de infecção concorrente com outros agentes da febre carraça, deve administrar-se doxiciclina conforme as indicações referidas anteriormente. Os glucocorticoides não são recomendados por estarem associados à exacerbação da doença. Quando é necessário o emprego de anti-inflamatórios devem usar-se preferencialmente os anti-inflamatórios não esteroides [60].

### **2.1.4 Dirofilariose**

#### **2.1.4.1 Agente etiológico**

A dirofilariose é uma doença causada pelo nematode *Dirofilaria immitis*, o qual utiliza como vetor mosquitos de diversas espécies, incluindo *Aedes* spp., *Anopheles* spp., *Culex* spp. e *Psorophora* spp.. O cão doméstico e alguns canídeos selvagens são os hospedeiros definitivos normais, sendo os principais hospedeiros reservatório. Hospedeiros menos adequados como gatos e furões, ocasionalmente têm um nível baixo e transiente de microfilaremia e portanto, teoricamente podem servir como fonte de infecção durante esses curtos períodos de microfilaremia. A dirofilariose tem distribuição mundial mas, está limitada a regiões onde coabite um vetor competente e onde a temperatura ambiente possibilite o desenvolvimento do parasita dentro dos mosquitos até ao estágio infetante [62, 63, 64].

O ciclo de vida de *Dirofilaria immitis* é relativamente longo quando comparado com outros nematodes parasitas, geralmente de sete a nove meses. O vetor competente infeta-se quando ingere as larvas de primeiro estágio (L1) de um hospedeiro microfilarémico. Nos túbulos de Malpighi do mosquito a L1 sofre duas mudas: de L1 para larva de segundo estágio (L2) e depois para larva de terceiro estágio (L3). Partindo dos túbulos de Malpighi a L3 migra através das cavidades do corpo até à cabeça e aparelho bucal do mosquito, onde torna-se infetante. Em média este processo decorre em 10 a 14 dias a 82°F (28°C) e 80% de humidade relativa mas, pode ser prolongado substancialmente a temperaturas ambiente mais baixas (30 dias a 63°F, 17°C), cessando a maturação larvar a temperaturas abaixo dos 57°F (14°C). Quando o mosquito volta a alimentar-se, a larva infetante rutura a parte terminal do *labrum* do mosquito, emergindo dentro de uma gota de hemolinfa a qual contacta com a pele do hospedeiro. Estas larvas, sexualmente diferenciadas, entram no corpo do animal através da

ferida feita pelo aparelho bucal do mosquito. No tecido subcutâneo do hospedeiro a L3 muda para larva de quarto estágio (L4) e depois para larva de quinto estágio (L5). Estas mudas ocorrem durante a migração nos tecidos ao longo de dois, três meses. A L5 entra na circulação venosa alcançando as artérias pulmonares entre os 67 e 120 dias pós-infecção. As primeiras L5 a entrar na vasculatura pulmonar, entre o dia 67 e o dia 85 após a infecção, têm entre uma e uma e meia polegadas de comprimento. Na vasculatura pulmonar as L5 adultas imaturas (juvenis) continuam o seu desenvolvimento, com as fêmeas aumentando quase dez vezes em comprimento, tornando-se sexualmente maduras por volta do dia 120 pós-infecção. Quando os juvenis alcançam os pulmões, o fluxo sanguíneo força-os a entrar nas pequenas artérias pulmonares. Como as larvas crescem, ocupam progressivamente artérias de maior calibre até que se tornam totalmente maduras. As microfírias podem começar a ser produzidas pelos adultos maduros aos seis meses pós-infecção mas, geralmente isso apenas se verifica entre os sete e nove meses. A eventual localização dos parasitas adultos maduros parece depender principalmente do tamanho do cão e da carga parasitária. Um cão de porte médio (por exemplo um *Beagle*) com baixa carga parasitária (isto é inferior ou igual a cinco larvas adultas) geralmente tem as larvas adultas principalmente nas artérias lobares e artéria pulmonar principal. Quando a carga parasitária aumenta, as larvas podem localizar-se no ventrículo direito. Os cães com cargas parasitárias superiores a 40, muito provavelmente vão desenvolver a síndrome da veia cava, quando as larvas alojarem-se no ventrículo direito, átrio direito e veia cava, interferindo assim com a função valvular e fluxo sanguíneo, produzindo hemólise, disfunção hepática e renal, e insuficiência cardíaca [63, 64].

Embora os gatos sejam hospedeiros suscetíveis, são mais resistentes à infecção pelos adultos de *Dirofilaria immitis* do que os cães. Num ensaio, no qual cães e gatos foram inoculados com 100 L3, obteve-se que em média desenvolveram-se 60 larvas até ao estágio adulto em quase 100% dos cães, enquanto nos gatos desenvolveram-se entre três e dez larvas adultas em aproximadamente 75% dos gatos. Nos gatos, verificou-se que as L3 desenvolveram-se até L5 imaturas (juvenis) com algumas perdas durante o processo mas, a maior taxa de mortalidade das larvas ocorreu quando os juvenis alcançaram os pulmões, três a quatro meses depois da infecção [65].

A maioria dos gatos infetados aloja menos de seis larvas adultas, geralmente uma ou duas larvas adultas estão presentes, e aproximadamente um terço das infecções consistem em parasitas do mesmo sexo [65].

A esperança média de vida das larvas adultas de *D. immitis* é de cinco a sete anos no cão e de dois a três anos no gato [63].

#### **2.1.4.2 Patofisiologia e sinais clínicos**

*Dirofilaria immitis* é um agente patogénico primário da vasculatura pulmonar dos seus hospedeiros definitivos. As larvas adultas alojadas no interior dos vasos sanguíneos causam

inflamação do endotélio e hipertrofia da túnica média, resultando em dilatação e tortuosidade das artérias pulmonares, trombose pulmonar e doença pulmonar intersticial e alveolar. Por sua vez, a doença pulmonar intersticial e alveolar conduz a hipertensão pulmonar. As microfírias podem também causar pneumonia, caracterizada por infiltrados intersticiais neutrofílicos e eosinofílicos. Para além das larvas vivas causarem alterações significativas, as larvas mortas são responsáveis por grande parte da patologia manifestada na doença clínica. Uma vez mortas, as larvas decompõem-se e os fragmentos resultantes depositam-se nas arteríolas pulmonares distais e no leito dos capilares dos lobos pulmonares caudais, bloqueando o fluxo sanguíneo. Os fragmentos em conjunto com a inflamação desencadeada e a agregação plaquetária resultam em tromboembolismo. Durante os períodos de maior atividade ou exercício, o aumento do fluxo sanguíneo para esses vasos bloqueados pode causar lesão dos capilares, rutura e fibrose subsequente. Isto leva ao aumento da resistência vascular pulmonar e, potencialmente, insuficiência cardíaca direita [63, 64].

Invariavelmente formam-se complexos anticorpo-antígeno, que uma vez depositados nos glomérulos renais causam glomerulonefrite [63, 64].

De acordo com os sinais clínicos manifestados pode-se qualificar o estado da doença. Os animais com dirofilariose leve geralmente são assintomáticos ou apenas apresentam tosse. Na forma moderada da doença, o animal apresenta tosse, intolerância ao exercício e ruídos pulmonares anormais. No estado grave, para além da presença dos sinais clínicos apresentados na classe anterior, o animal pode manifestar dispneia, sons cardíacos anormais, hepatomegalia, síncope e ascite, podendo ser fatal [63].

A síndrome da veia cava desenvolve-se agudamente em alguns cães muito parasitados ou com insuficiência cardíaca concorrente, uma vez que as larvas adultas vão alojar-se no coração direito, obstruindo parcialmente o fluxo sanguíneo através da válvula tricúspide e interferindo com o fecho da válvula. As características da síndrome são congestão passiva grave do fígado, insuficiência renal, murmúrio sistólico derivado da regurgitação da tricúspide e pulso jugular. O diagnóstico é baseado num começo repentino de letargia severa, dispneia, membranas mucosas pálidas, hipotensão e fraqueza acompanhada por hemoglobinemia e hemoglobinúria (com origem na hemólise intravascular). O curso clínico geralmente termina fatalmente dentro de dois dias se a extração cirúrgica das larvas não for prontamente efetuada [63, 64].

Assim como a gravidade da doença está relacionada com a carga parasitária, de igual importância, senão maior, é o nível de atividade do cão. Um estudo mostrou que cães infetados através de transplantação cirúrgica com 50 larvas adultas e com exercício físico restrito, para além de demorarem mais tempo a manifestar a doença clínica, desenvolveram menos alterações vasculares pulmonares, do que cães com 14 larvas adultas mas, aos quais foi permitida a realização de atividade física moderada. Noutros estudos obtiveram-se conclusões semelhantes, verificando-se que em cães infetados naturalmente não havia correlação entre o número de larvas adultas e a resistência vascular pulmonar [63].

Os gatos tendencialmente apenas exibem sinais clínicos transientes ou nunca manifestam sinais clínicos, morrendo frequentemente sem confirmação da infecção. Quando os sinais são evidentes, geralmente desenvolvem-se em duas fases da doença: chegada das L5 imaturas à vasculatura pulmonar (cerca de três a quatro meses após a infecção); e morte das L5 maduras [65].

Na primeira fase a sintomatologia é devida à inflamação vascular e parenquimal aguda devida à chegada dos juvenis e subsequente morte da maioria destes. Esta fase é frequentemente diagnosticada como asma ou bronquite alérgica mas, efetivamente faz parte da síndrome conhecida como *heartworm-associated respiratory disease* (HARD). Os sinais clínicos relacionados com esta fase atenuam ou regridem quando os juvenis tornam-se adultos maduros mas, as lesões histopatológicas persistem mesmo nos gatos que eliminam a infecção [65].

Estando a infecção estabilizada, a resposta do sistema imunitário face à presença dos parasitas é suprimida, permitindo a muitos gatos tolerar a infecção sem sinais clínicos aparentes – até que as L5 maduras começam a morrer, dando-se início à segunda fase da doença. A degeneração dos parasitas resulta em inflamação pulmonar e tromboembolismo, o qual invariavelmente leva a dano pulmonar agudo e fatal [65].

A sintomatologia clínica pode tratar-se apenas de um mal-estar geral ou ser predominantemente de natureza respiratória, gastrointestinal, ou ocasionalmente neurológica. Os sinais podem ser agudos ou crónicos. Os sinais clínicos mais frequentes estão relacionados com doença respiratória crónica e incluem, taquipneia persistente, tosse intermitente e aumento do esforço respiratório. Está também descrito anorexia, perda de peso, vômito intermitente não relacionado com a ingestão de alimento e, ocasionalmente, ascite, hidrotórax, quilotórax, pneumotórax, ataxia, convulsões, hemóptise e síncope [65].

A síndrome da veia cava raramente ocorre em gatos porque a carga parasitária é geralmente baixa; contudo, apenas uma ou duas larvas podem causar regurgitação na tricúspide e inerente sopro cardíaco [65].

Como a carga parasitária é geralmente baixa nos gatos e a duração da infecção é geralmente menor, as lesões tendem a ser localizadas e ordinariamente insuficientes para causar obstrução num grau capaz de provocar hipertensão pulmonar. Consequentemente, o desenvolvimento de hipertrofia ventricular direita e insuficiência cardíaca direita é menos comum em gatos do que nos cães [65].

### **2.1.4.3 Diagnóstico**

#### **2.1.4.3.1 Hemograma**

Anemia, basofilia, eosinofilia, leucocitose, linfopenia, monocitose, neutrofilia e trombocitopenia são algumas das alterações que podem ser verificadas no hemograma [64].

#### **2.1.4.3.2 Esfregaço sanguíneo**

Como as microfilárias podem estar presentes em baixo número, o exame de rotina do esfregaço sanguíneo é bastante insensível. Uma forma simples de melhorar a sensibilidade do esfregaço sanguíneo para detecção de microfilárias é utilizar o sangue obtido de capilares periféricos, por exemplo do pavilhão auricular, dado que as microfilárias tendem a concentrar-se nessas zonas. A hora de colheita do sangue também pode providenciar diferenças nos resultados substanciais, visto que a circulação de microfilárias mostra periodicidade proeminente [1]. A microfílaemia é particularmente evidente nas horas de crepúsculo. Nas figuras 34 e 35 estão presentes microfilárias.

#### **2.1.4.3.3 Bioquímicas séricas**

As alterações mais comuns são hiperbilirrubinemia, hemoglobínia e hiperglobulinemia [64].

#### **2.1.4.3.4 Serologia**

A detecção do antígeno circulante de *Dirofilaria immitis*, por *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) ou por imunocromatografia, é o método de diagnóstico existente mais sensível e também quase 100% específico no cão. A geração corrente dos testes de antígeno identifica a maioria das infeções “ocultas” (as larvas adultas estão presentes mas, não há microfilárias circulantes) uma vez que menos de um por cento das infeções nos cães são não antígenicas [63].

Os testes de antígeno atualmente disponíveis detetam uma proteína secretada principalmente pelo útero maduro das fêmeas adultas de *Dirofilaria immitis*. Os machos geralmente não são detetados. Animais com menos de três fêmeas adultas ou apenas com machos adultos podem originar resultados falsos negativos. Além disso, a antígenemia pode ser suprimida até aproximadamente nove meses pós-infeção em cães que estão a receber lactonas macrocíclicas quimioproláticas. Estão também descritos casos de formação de complexos anticorpo-antígeno os quais interferem com o teste, originando resultados falsos negativos. Ao aquecer as amostras em banho-maria a 104°C durante dez minutos, esses complexos vão quebrar-se libertando os antígenos, o que vai aumentar a sensibilidade do teste [63, 64].

O mínimo de tempo requerido para detecção do antígeno após a infeção são cinco meses. Para determinar quando deve ser realizada a testagem do antígeno de forma a minimizar os falsos negativos, deve adicionar-se um período razoável (sete meses) à data na qual o animal pode ter contraído a infeção. Deste modo, não se justifica a realização de um teste de antígeno antes dos sete meses de idade [63].

A quantidade de antígeno em circulação suporta uma relação direta mas, imprecisa, com o número de fêmeas maduras, pelo que a intensidade da cor num teste de ELISA não deve ser diretamente relacionada com o número de fêmeas no hospedeiro. As limitações do teste de ELISA para avaliação do grau de parasitismo são devidas: ao aumento transiente na antigenemia, associada à morte recente de larvas; baixa produção de antígeno pelas fêmeas imaturas; ou quando estão presentes poucas fêmeas. Deste modo, a análise quantitativa do antígeno é muitíssimo especulativa e requer a correlação com outros dados relevantes recolhidos no exame clínico pelos meios de diagnóstico complementar [63, 64].

Os animais permanecem antígeno positivos durante três a cinco meses depois da eliminação terapêutica do parasita [63].

As larvas que sobrevivem ao tratamento adulticida são invariavelmente as fêmeas produtoras de antígeno. Consequentemente, a maioria das infeções persistentes pós-adulticida tornam-se “ocultas” seis a nove meses depois, com ou sem tratamento microfilaricida [63].

O teste de antígeno é o método mais fidedigno para confirmar a eficácia da terapia adulticida. Se todas as fêmeas adultas tiverem sido mortas aquando do tratamento adulticida, o antígeno deve tornar-se indetetável seis meses depois [63].

Os gatos infetados geralmente albergam apenas adultos maduros do sexo masculino pelo que, nesta espécie a probabilidade de obter um falso negativo aquando da realização de um teste de antígeno é elevada. Por conseguinte, recomenda-se o uso conjunto de um teste de antígeno com um teste de anticorpo. É de salientar que a sensibilidade e especificidade dos testes de anticorpo variam consideravelmente entre os testes disponíveis. As larvas de *D. immitis* podem estimular a produção de anticorpos tão cedo como dois meses pós-infeção. Como a resposta do sistema imunitário é diminuída com a maturação dos parasitas, também o título de anticorpos terá tendência a diminuir, pelo que a probabilidade de um teste de anticorpo ser positivo é maior em gatos que manifestam sintomatologia do que em gatos assintomáticos [65].

#### **2.1.4.3.5 Exame de gota fresca**

Nas áreas endémicas aproximadamente 20% dos cães infetados não manifestam microfilaremia e este número é ainda maior em cães que cumprem um programa profilático com lactonas macrocíclicas, razão pela qual, caso não sejam detetadas microfíliarias circulantes, deve-se realizar o teste de antígeno para descartar potenciais infeções “ocultas” [63].

A maioria dos cães microfilarémicos podem ser identificados através do exame microscópico de uma gota de sangue fresco, quer pela deteção de microfíliarias, quer pelo movimento das células gerado pela motilidade das mesmas. Um movimento abaixo da *buffy coat* num tubo de microhematócrito também pode ser visível. Porém, estes são métodos pouco sensíveis para examinar o sangue quando está presente um baixo número de microfíliarias (50-

100/mL). Para aumentar a sensibilidade da detecção das microfilárias, no mínimo deve ser examinado um mililitro de sangue recorrendo a uma técnica de concentração (teste modificado de Knott ou teste de filtração). O mínimo de tempo requerido para detecção de microfilárias após a infeção são seis meses [63]. Os gatos raramente exibem microfilaremia pelo que este exame como teste de diagnóstico carece de sensibilidade [65].

O teste modificado de Knott consiste em juntar um mililitro de sangue a nove mililitros de solução de formalina a dois por cento, num tubo. O tubo é invertido várias vezes para misturar o sangue com a solução de formalina, a qual é responsável pela lise dos eritrócitos, originando uma solução cor de vinho clara. Em seguida, o tubo é colocado numa centrífuga, durante cinco minutos, e procede-se a uma decantação. Uma gota de azul de metileno é adicionada ao tubo com o sedimento e, posteriormente, uma gota do sedimento corado é colocada sobre uma lâmina e coberta com uma lamela. Para averiguar a presença de microfilárias a lâmina deve ser examinada com uma magnificação de 100X. A observação das características morfológicas das microfilárias deve ser feita com uma magnificação de 400X [63].

Aquando do exame morfológico das microfilárias é importante fazer a diferenciação de *D. immitis* das espécies de filárias não patogénicas tais como *Acanthocheilonema* (antigamente *Dipetalonema*) *reconditum*. A microfilária de *Dirofilaria immitis* tem 295 µm a 325 µm de comprimento, tem a cabeça cónica e a cauda reta. A microfilária de *Acanthocheilonema reconditum* tem 250 µm a 288 µm de comprimento, com a cabeça romba e a cauda curva [63]. Em preparações húmidas as microfilárias de *D. immitis* mexem-se no mesmo campo enquanto as microfilárias de *A. reconditum* mudam de campo [64].

#### **2.1.4.3.6 Radiografia**

A radiografia é o método de avaliação mais objetivo da gravidade da doença cardiopulmonar secundária à infeção, sendo uma ferramenta de grande utilidade na constituição do prognóstico do paciente. Os sinais típicos (quase patognómicos) de doença vascular provocada por *D. immitis* são as artérias pulmonares dilatadas e tortuosas, acompanhadas de vários graus de doença pulmonar parenquimatosa. As primeiras alterações arteriais pulmonares verificam-se comumente em localizações caudo-dorsais dos lobos pulmonares diafragmáticos. Com a progressão da doença, as alterações são observadas sucessivamente nos vasos de maior calibre. Nos casos mais graves, eventualmente o coração direito dilata, observando-se aumento da silhueta cardíaca [63, 64].

Como a maioria dos gatos não desenvolve hipertensão pulmonar, a dirofilariose felina raramente resulta em dilatação das artérias pulmonares e cardiomegalia. O padrão pulmonar broncointersticial também pode regredir em poucos meses. Outras alterações radiográficas descritas em gatos incluem: hiperinflação pulmonar com achatamento do diafragma, focos de radiodensidade no parênquima pulmonar, consolidação de lobos pulmonares, efusão pleural e

pneumotórax. Aproximadamente metade dos gatos suspeitos de estarem infetados, com base na anamnese e exame físico, exibem sinais radiográficos compatíveis com dirofilariose. Infeções por *Toxocara cati* e *Aelurostrongylus* spp. devem ser incluídas na lista de diagnósticos diferenciais [65].

#### **2.1.4.4 Terapêutica**

A *American Heartworm Society* recomenda a adoção do protocolo descrito na tabela 19 na abordagem e tratamento da dirofilariose canina [63].

Nos gatos o tratamento adulticida é desaconselhado e não está associado ao aumento da taxa de sobrevivência. Nos gatos sem sinais clínicos notórios, é prudente aguardar por uma cura espontânea, fazendo monitorizações periódicas cada seis a 12 meses. A regressão dos sinais radiográficos e especialmente a seroconversão de um teste de antígeno positivo num resultado negativo são indicativos de que o período de risco provavelmente passou [65].

##### **2.1.4.4.1 Profilaxia**

Os cachorros devem iniciar a quimioprofilaxia tão cedo quanto possível e não mais tarde do que oito semanas de idade. Aqueles que iniciam a prevenção da dirofilariose depois das oito semanas de idade, ou que estão em áreas endêmicas alojados em ambientes exteriores não protegidos, devem ser testados seis meses depois do início do programa profilático e depois anualmente. Os cães com idade igual ou superior a sete meses devem ser testados para a presença de microfilárias e antígeno antes de iniciarem o programa profilático [63].

Embora a testagem dos gatos antes de iniciar a quimioprofilaxia seja recomendada, a sua utilidade é bastante menor do que nos cães. A maioria dos gatos seropositivos apenas estiveram infetados transientemente por L4. A realização do exame de gota fresca é desnecessária, uma vez que o desenvolvimento de microfilaremia no gato é invulgar e em nível insuficiente para desencadear as reações adversas associadas ao tratamento microfilaricida verificadas no cão. Embora a infeção nos gatos possa ser transiente, a presença das L4 é suficiente para o desenvolvimento de HARD, pelo que justifica-se a importância de instituir a profilaxia nos gatos [65].

Os quimioprofiláticos correntemente comercializados (ivermectina, milbemicina, moxidectina e selamectina) pertencem à classe das lactonas macrocíclicas. Estas drogas afetam as microfilárias, L3 e L4 e, em alguns casos de uso contínuo, as larvas adultas [63].

A ivermectina (6-12 µg/Kg no cão e 24 µg/Kg no gato) e a milbemicina oxima (0,4-1,0 µg/Kg no cão e 2 µg/Kg no gato) estão disponíveis para administração oral. A ivermectina mata eficazmente as L3 e L4 e tem algum efeito nas L5, enquanto a milbemicina é menos eficiente na morte das L3 e L4 e restantes microfilárias [64, 65].

A moxidectina (6 mg/Kg no cão e 1 mg/Kg no gato) e a selamectina (6 mg/Kg no cão e no gato) estão disponíveis para aplicação tópica. A selamectina, à semelhança da ivermectina, tem atividade microfilaricida lenta [63, 64, 65].

A moxidectina está igualmente disponível numa formulação injetável de libertação lenta (moxidectina impregnada com microesferas lipídicas) a qual é administrada subcutaneamente, possibilitando proteção contínua durante seis meses. É recomendado repetir a administração cada seis meses para garantir uma proteção máxima [63]. Os efeitos secundários mais comuns são irritação no local da injeção, vômito e letargia. Os efeitos secundários mais graves incluem hemorragia intestinal hiperaguda, edema facial e morte, embora a maioria dessas descrições sejam referidas como anedóticas [64].

Alguns *Collies* e outros cães com deficiência na glicoproteína P são invulgarmente sensíveis a uma variedade de drogas de uso comum em veterinária, incluindo alguns antidepressivos, agentes antimicrobianos, opióides, imunossuppressores e fármacos para doentes cardíacos. As lactonas macrocíclicas estão também incluídas nessa lista, manifestando-se toxicidade em casos de sobredosagem (doses superiores à dose profilática) ou em combinação com outras drogas inibidoras da glicoproteína P [63, 64].

Todos os produtos quimioprofiláticos de lactonas macrocíclicas administrados oralmente e topicamente devem ser administrados cada 30 dias. Além desse intervalo, a eficácia contra as L4 declina e é imprezível. As L5 imaturas (*juvenis*), as quais podem ser encontradas tão cedo como 52 dias pós-infeção, são ainda menos suscetíveis à quimioprofilaxia [63].

A profilaxia, para ser efetiva ao máximo, deve ser mantida todo o ano. Se se optar por um tratamento sazonal, deve-se iniciar a administração do profilático no mínimo um mês antes da época de transmissão do parasita e deve ser continuada no mínimo três meses após o término da época. A recomendação de prolongar a profilaxia três meses após a época de transmissão cessar é devida à existência de estirpes resistentes, sendo a extensão do tratamento requerida para eliminar a infeção. Estudos recentes demonstram que nem todas as drogas e formulações necessitam dessa extensão [63].

#### **2.1.4.4.2 Terapia microfilaricida**

Os microfilaricidas podem ser administrados várias semanas antes, poucas horas depois, ou duas a quatro semanas depois, da administração do adulticida. A primeira e última opções minimizam o risco de associação das complicações da terapia adulticida e microfilaricida [64].

As complicações da terapia microfilaricida consistem maioritariamente em vômito, depressão, anorexia e, raramente, choque. Até oito por cento dos cães submetidos a terapia microfilaricida podem desenvolver estes sinais, os quais estão provavelmente relacionados

com a morte em massa das microfilárias. Estes sinais clínicos podem ser prevenidos com a administração de glucocorticosteroides [64].

A administração de uma dose única de ivermectina (0,05 mg/Kg) por via oral mata eficazmente as microfilárias. Todavia, é de salientar, que esta dose é dez vezes superior à dose profilática da ivermectina, pelo que não deve ser administrada em *Collies*, *Bobtail* e Pastor Australiano. Em alternativa, pode-se administrar a ivermectina em doses profiláticas como indicado anteriormente [64].

Uma única dose de milbemicina (0,5 mg/Kg), administrada oralmente, elimina mais de 98% das microfilárias nos cães infetados. Se a microfilaremia for pronunciada, a dose pode ser reduzida para metade [64].

#### **2.1.4.4.3 Terapia adulticida**

Dicloridrato de melarsomina, administrado por via intramuscular profunda nos músculos epaxiais lombares, é a única droga adulticida aprovada pela FDA. Até à data a melarsomina não tem mostrado ter atividade em larvas com menos de quatro meses de idade contudo, dados recentes (não publicados), sugerem que a melarsomina pode ter mais eficácia contra as larvas juvenis do que anteriormente se acreditava [63].

Existem dois protocolos de administração: um constituído por duas injeções de 2,5 mg/Kg separadas por um período de 24 horas; e o outro constituído por três injeções (uma injeção de 2,5 mg/Kg seguida, no mínimo um mês depois, de duas injeções na mesma dose separadas por 24 horas de intervalo). O protocolo de duas injeções elimina cerca de 90% das larvas adultas, enquanto o protocolo de três injeções elimina 98% das larvas. Anteriormente, o protocolo era escolhido de acordo com um sistema de classificação baseado na gravidade da doença. Contudo, os protocolos escolhidos com base no estadiamento da doença, bem como o uso de apenas duas injeções, não garantiam o sucesso da terapêutica. Hoje em dia, independentemente da gravidade e do estadiamento da doença (com exceção da síndrome da veia cava), o protocolo de três injeções é recomendado pela *American Heartworm Society* devido ao aumento da segurança e eficácia do mesmo [63, 64].

A dose a ser administrada deve ser calculada com exatidão. A sobredosagem pode ter consequências graves mas, requer três vezes a dose terapêutica para produzir sinais de toxicidade. Estes são comumente edemas pulmonares. Os outros indicadores de toxicidade incluem tremores, letargia, ataxia, agitação, respiração superficial, taquipneia, dispneia, hipersialia e vômito [64].

Pode ocorrer tumefação e dor transitórias no local da injeção. Contudo, estes podem ser minimizados garantindo que o injetável é depositado profundamente na musculatura epaxial do abdómen, com uma agulha diferente da usada para introdução da droga na seringa, e de comprimento e *gauges* adequados ao tamanho e condição corporal do animal. Pode ser proveitoso aplicar pressão digital durante um a três minutos depois da administração [63, 64].

#### 2.1.4.4.4 Terapia adjuvante

A terapia adjuvante destina-se a evitar ou diminuir as complicações pós-adulticida, as quais incluem tromboembolismo pulmonar, pneumonia e trombocitopenia, que pode evoluir para CID [64].

Os cães que exibem sinais de doença devem ser estabilizados antes da administração de um adulticida. Isto pode requerer a administração de glucocorticoides, diuréticos, vasodilatadores, agentes ionotrópicos positivos e fluidoterapia [63].

Para além da radiografia torácica ser de grande utilidade na definição do estado cardiopulmonar do animal, pode ser bastante vantajosa na avaliação das potenciais complicações pós-adulticida. A doença tromboembólica é comumente observada em cães infetados e que exibem sinais radiográficos de obstrução grave da artéria pulmonar, especialmente naqueles que apresentam sintomatologia clínica [63].

O tromboembolismo pulmonar é uma consequência inevitável da terapia adulticida, podendo ser grave quando a carga parasitária é elevada e a doença arterial pulmonar é extensa. Caso ocorra embolismo, os sinais (febre baixa, tosse, hemoptise, exacerbação da insuficiência cardíaca direita) são geralmente manifestados sete a dez dias após completar a administração do adulticida mas, podem tardar até quatro semanas. Embolias em áreas relativamente saudáveis do pulmão podem ser clinicamente inaparentes. A redução da atividade física está associada a menor risco de tromboembolismo [63].

A atividade do cão é o fator contribuinte mais significativo nas complicações pós-adulticida. Num cão com dirofilariose é imperativo restringir a atividade física, excitação e sobreaquecimento [63].

O uso de glucocorticosteroides em associação com o adulticida foi sempre muito controverso, afirmando-se que a eficácia do adulticida era diminuída pela administração concomitante. Todavia, essas afirmações eram feitas com base em estudos realizados com a tiacetarsamida arsenical, não havendo evidências da diminuição da eficácia da melarsomina quando usada simultaneamente com a prednisona. A administração de glucocorticosteroides ajuda a controlar os sinais clínicos de tromboembolismo pulmonar. Em áreas endêmicas, onde os animais provavelmente têm cargas parasitárias significativas, os glucocorticosteroides podem ser usados. A prednisona é rotineiramente prescrita da seguinte forma: primeira semana - 0,5 mg/Kg, por via oral, duas vezes por dia; segunda semana - 0,5 mg/Kg, por via oral, uma vez por dia; terceira e quarta semana - 0,5 mg/Kg, por via oral, dia-sim dia-não [63, 64]. Rishniw (2005) recomenda a instituição de um protocolo de administração de prednisolona (0,5-1,0 mg/Kg, por via oral, cada 12 horas, durante três dias, reduzindo depois gradualmente) imediatamente a seguir à administração do adulticida, ou ainda iniciar a prednisolona previamente à terapia adulticida, de forma a minimizar o risco de complicações pós-adulticida [64]. Nos gatos, o uso de prednisona é eficaz no tratamento de suporte de pacientes com evidências radiográficas de dirofilariose, devendo ser iniciado quer o paciente seja sintomático

ou assintomático. A prednisona também deve ser utilizada em gatos seropositivos e que manifestem sintomatologia. Recomenda-se a prescrição da prednisona na dose de 2 mg/Kg por dia, declinando gradualmente para 0,5 mg/Kg, dia-sim dia-não, durante duas semanas de tratamento, sendo depois descontinuada após um período adicional de tratamento no mesmo regime. Nessa altura, os efeitos do tratamento devem ser avaliados através da resposta clínica do paciente e da análise de nova radiografia torácica. O tratamento pode ser repetido em animais com sintomatologia recorrente [65].

O uso empírico da aspirina, pelos seus efeitos antitrombóticos ou para reduzir a arterite pulmonar, não é recomendado em cães e gatos com dirofilariose. Para além de não haver evidências que demonstrem benefícios clínicos, dados mais recentes sugerem que a aspirina pode ser contraindicada [63, 64].

Muitos nematodes, incluindo *Dirofilaria immitis*, são portadores de bactérias intracelulares obrigatórias, Gram-negativas e endossimbióticas, pertencentes ao género *Wolbachia* (ordem Rickettsiales). A presença de *Wolbachia* sp. é um fator contribuinte na patogénese da dirofilariose, possivelmente devido aos seus metabolitos. Estudos recentes mostram que a maior proteína de superfície de *Wolbachia* sp. induz a produção de imunoglobulina G específica nos hospedeiros infetados por *D. immitis*. A doxiciclina reduz o número de *Wolbachia* sp. em todos os estádios de *D. immitis*. Atualmente acredita-se que *Wolbachia* sp., através da sua proteína de superfície, contribui para o desenvolvimento da inflamação pulmonar e renal. Os cães com dirofilariose tratados com ivermectina e doxiciclina previamente ao tratamento adulticida desenvolveram menos patologia pulmonar associada à morte das larvas. Outros dados referem que a doxiciclina elimina mais de 95% dos organismos *Wolbachia* sp. nas filárias *Wuchereria bancrofti*, resultando na supressão gradual da microfílarémia ao longo de 12 meses. Além disso, as microfílarías de cães tratados com doxiciclina que foram ingeridas por mosquitos desenvolveram-se em L3 que pareciam ser normais em aparência e motilidade mas, não foram capazes de desenvolverem-se em larvas adultas, sugerindo que a presença de *Wolbachia* sp. é necessária para a embriogénese de *Wuchereria bancrofti*. No que diz respeito à *D. immitis*, um estudo realizado em animais infetados experimentalmente, concluiu que a administração de doxiciclina, durante o primeiro ou segundo mês após a infeção, era letal para as L3 e L4 [63].

Se incorporada no protocolo terapêutico, a doxiciclina (10 mg/Kg, por via oral, duas vezes por dia, durante quatro semanas) deve ser dada antes da administração da melarsomina. Deste modo, os organismos *Wolbachia* sp. e os seus metabolitos estarão reduzidos ou ausentes quando as larvas morrerem e fragmentarem-se [63].

#### **2.1.4.4.5 Cirurgia**

A extração das larvas adultas é o procedimento de escolha para os cães com infeções massivas e de elevado risco, e constitui a alternativa ao tratamento adulticida em gatos com

cargas parasitárias elevadas ou em estado crítico. Contudo, antes de eleger este método de tratamento, deve ser realizado um exame ecográfico ao coração direito e artérias pulmonares de forma a determinar se um número suficiente de larvas adultas está em localização acessível [63, 65].

A remoção cirúrgica das larvas do átrio direito e orifício da válvula tricúspide pode ser realizada com sedação leve, a qual pode mesmo não ser necessária, e anestesia local. O acesso é feito com uma pinça de crocodilo (rígida ou flexível), ou com uma alça intravascular, preferencialmente via veia jugular externa direita. Com o auxílio da fluoroscopia se disponível, devem ser retiradas tantas larvas quanto possível, repetindo o procedimento até não se conseguirem alcançar mais larvas. Se a cirurgia tiver sido bem-sucedida, o sopro sistólico deve suavizar ou desaparecer imediatamente após a cirurgia, e a hemoglobínúria deve desaparecer nas 12 a 14 horas subsequentes. Algumas semanas depois da recuperação da cirurgia, é recomendado proceder à quimioterapia com adulticida para eliminar qualquer larva remanescente [63].

**Tabela 19-** Protocolo de atuação no diagnóstico e tratamento da dirofilariose canina recomendado pela *American Heartworm Society* [63]

<b>Dia</b>	<b>Tratamento</b>
Dia 0	Cão diagnosticado com dirofilariose: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste de antígeno positivo (verificado duas vezes) ou detecção de microfíliaras circulantes.</li> <li>• Sinais clínicos com um teste de antígeno positivo ou detecção de microfíliaras.</li> </ul> Iniciar a restrição do exercício físico. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Quanto mais pronunciados forem os sintomas, mais intransigente deve ser a restrição.</li> </ul> Se o cão é sintomático: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Estabilizar o paciente com terapia apropriada.</li> <li>• Prescrever prednisona a 0,5 mg/Kg, duas vezes por dia na primeira semana; 0,5 mg/Kg, uma vez por dia, na segunda semana; 0,5 mg/Kg, dia sim, dia não, na terceira e quarta semanas.</li> </ul>
Dia 1	Administrar o microfilaricida. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se estão presentes microfíliaras circulantes, administrar previamente antihistamínicos e glucocorticosteroides para reduzir o risco de anafilaxia.</li> <li>• Vigiar no mínimo durante 8 horas para detecção de possíveis complicações.</li> </ul>
Dia 1-28	Administrar doxiciclina 10 mg/Kg, duas vezes por dia, durante 4 semanas <ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduz a patologia associada com a morte das larvas.</li> <li>• Interrompe a transmissão do parasita.</li> </ul>
Dia 30	Administrar o microfilaricida.
Dia 60	Administrar o microfilaricida. Primeira injeção de melarsomina 2,5 mg/Kg por via intramuscular. Prescrever prednisona a 0,5 mg/Kg, duas vezes por dia, na primeira semana; 0,5 mg/Kg, uma vez por dia, na segunda semana; 0,5 mg/Kg, dia sim, dia não, na terceira e quarta semanas. Diminuir ainda mais o nível de atividade: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Enclausuramento numa gaiola ou prender com uma trela.</li> </ul>
Dia 90	Administrar o microfilaricida. Segunda injeção de melarsomina 2,5 mg/Kg por via intramuscular.
Dia 91	Terceira injeção de melarsomina 2,5 mg/Kg por via intramuscular. Prescrever prednisona a 0,5 mg/Kg, duas vezes por dia, na primeira semana; 0,5 mg/Kg, uma vez por dia, na segunda semana; 0,5 mg/Kg, dia sim, dia não, na terceira e quarta semanas. Continuar a restrição de exercício por mais 6 a 8 semanas.
Dia 120	Testar a presença de microfíliaras. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se positivo, tratar com um microfilaricida e repetir o teste quatro semanas depois.</li> <li>• Iniciar um protocolo profilático durante todo o ano.</li> </ul>
Dia 271	Testar para antígeno 6 meses depois de completar a terapia adulticida.

## **CAPÍTULO III- AVALIAÇÃO DE ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS**

### **3.1 Objetivos**

Uma importante medida do controlo de qualidade dos analisadores automatizados de hematologia, facilmente realizada e num curto período de tempo, é a avaliação do esfregaço sanguíneo. O exame minucioso e sistemático do esfregaço sanguíneo é essencial para confirmar os números obtidos pelo equipamento de hematologia, para avaliar a morfologia dos eritrócitos e leucócitos, e para procurar inclusões celulares, hemoparasitas ou outros microrganismos [4].

O propósito desta dissertação é demonstrar o método de execução e avaliação de um esfregaço sanguíneo, destacando as principais alterações que podem ser observadas, de forma a nos podermos iniciar nesta prática tão simples quanto importante. Além disso, pretende-se também verificar se as eventuais alterações inespecíficas no esfregaço sanguíneo, em conjunto com os restantes dados clínicos, podem ser sugestivas de infeção por hemoparasitas.

### **3.2 Material e métodos**

Durante o primeiro semestre do ano 2014, foram recolhidas amostras sanguíneas, no Hospital Veterinário de Loulé, na cidade de Loulé, sul de Portugal, de cães e gatos suspeitos de hemoparasitoses.

Dada a diversidade de características dos pacientes e dos respetivos meios de diagnóstico a que os mesmos foram submetidos, houve necessidade de uniformização da amostra de pacientes para efeito desta análise, tendo-se estabelecido critérios de inclusão e exclusão, os quais são descritos de seguida. Critérios de inclusão: sintomatologia e/ ou hemograma, bioquímicas séricas consistentes com a doença; boa resposta à terapêutica; esfregaço sanguíneo efetuado antes da introdução do antibiótico. Critérios de exclusão: outros achados clinicopatológicos compatíveis com as alterações verificadas e indicativos de outra etiologia; registo de administração de corticoides no último mês. No total obedeceram a estes critérios 18 pacientes (14 cães e 4 gatos), aos quais são referentes os dados constantes nos resultados.

Os sinais clínicos mais comuns incluíram prostração, hipertermia, hiporexia ou anorexia, aumento da fosfatase alcalina, trombocitopenia e anemia. Foi também registado dor inespecífica, membranas mucosas pálidas, perda de peso, alterações gastrointestinais (vómito e diarreia), petéquias, prolongamento do tempo de coagulação, epistaxis, linfadenomegalia, alterações dermatológicas (as quais incluem demodecose localizada, lesões de dermatite e perda de qualidade do pêlo), resistência à ventroflexão, extensão e rotação do pescoço, esplenomegalia, taquipneia, dilatação dos vasos episclerais, alterações neurológicas (mais concretamente ataxia, *circling*, défice de propriocepção, défice nos reflexos de ameaça e

pupilar, e nistagmus), hiperproteinemia, hiperglobulinemia, aumento dos enzimas AST e ALT, hiperbilirrubinemia e uremia.

### **3.2.1 Colheita da amostra e sua manipulação**

Após a colheita do sangue de um dos vasos periféricos, a amostra foi prontamente transferida para um tubo com EDTA no volume estipulado pelo fabricante do mesmo tubo. É de salientar que para efeitos de venopunção não foram utilizadas agulhas superiores a 23 *gauges*, com o intuito de evitar a hemólise iatrogénica, a qual iria interferir na análise dos parâmetros do esfregaço sanguíneo.

Todas as amostras foram processadas imediatamente após a colheita, após inversão manual das mesmas cerca de cinco vezes e pesquisa grosseira da presença de eventuais coágulos na amostra. A leitura do hemograma foi feita, com base na espectroscopia de impedância electroquímica (*mindray BC-2800Vet*), apenas quando solicitada pelo clínico de serviço.

Para execução do esfregaço sanguíneo foi utilizada a técnica *glass-slide* [66], após colocação de uma pequena gota de sangue com auxílio de um microtubo ou de uma pipeta de Pasteur descartável. Os esfregaços sanguíneos foram rapidamente secos, por agitação manual simples de forma a minimizar alterações na morfologia dos eritrócitos [3, 4, 66].

### **3.2.2 Coloração do esfregaço sanguíneo**

Os esfregaços sanguíneos foram corados com uma coloração Diff Quik (tipo de coloração de Romanowsky, mais concretamente coloração rápida do tipo Wright) (1.11661.0001 Hemacolor®).

Cada esfregaço sanguíneo foi mergulhado sequencialmente nas três soluções constituintes do conjunto de coloração do seguinte modo:

- Solução 1 (fixador, metanol) – cinco vezes durante um segundo cada.
- Solução 2 (eosinofílica) – três vezes durante um segundo cada.
- Solução 3 (basofílica) – seis vezes durante um segundo cada.

Por último, foram lavados em água corrente e secos mediante fluxo de ar frio de um secador comum.

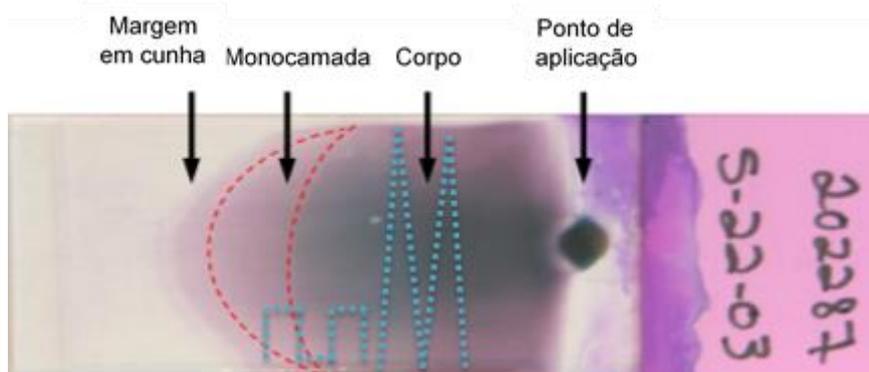
### **3.2.3 Exame do esfregaço sanguíneo**

O primeiro passo consistiu em varrer grosseiramente o esfregaço sanguíneo com as objetivas de baixo poder de ampliação (objetiva de 4X e 10X), com o propósito de averiguar a presença de agregados plaquetários ou leucocitários, aglutinação eritrocitária, *rouleaux*, células anormais e, eventualmente, microfilárias.

### 3.2.3.1 Contagem diferencial de leucócitos

Utilizando a ocular de 10X e a objetiva de 40X (magnificação de 400X) procedeu-se à contagem diferencial de leucócitos que consistiu na identificação de 200 leucócitos consecutivos segundo o padrão descrito na figura 28. Dado que os neutrófilos tendem a ser puxados para as margens do esfregaço sanguíneo em forma de cunha e os linfócitos tendem a permanecer no corpo do esfregaço, este padrão irá consequentemente, aumentar a exatidão da contagem diferencial de leucócitos, uma vez que abrange tanto as margens como o centro do esfregaço [66].

Estando a contagem completa e determinada a percentagem de cada tipo de leucócito, foi calculado o número absoluto correspondente. Para isso, multiplicou-se a percentagem de cada tipo de leucócito determinada pela contagem manual, pelo número absoluto de leucócitos determinado pelo equipamento automático de hematologia, obtendo-se assim o número de cada tipo de célula por microlitro de sangue.



**Figura 28-** Padrão de exame do esfregaço sanguíneo para contagem diferencial de leucócitos (linha azul) [adaptado de 4 e 66]

### 3.2.3.2 Identificação de leucócitos com morfologia anormal

A percentagem de linfócitos reativos e a morfologia correspondente dos linfócitos foi também contabilizada, sendo considerada significativa sempre que a mesma foi igual ou superior a cinco por cento. A categorização morfológica dos linfócitos reativos inclui os dois tipos morfológicos descritos por Downey e McKinlay, mais concretamente células tipo II e tipo III de Downey, e as células de morfologia intermédia entre os dois tipos precedentes [12 referido por 1].

Em caso de identificação de neutrófilos degenerados deve ser aferida a sua frequência relativa, e as alterações degenerativas observadas com maior detalhe utilizando a objetiva de 100X. De acordo com a percentagem obtida de neutrófilos degenerados esta é denominada como baixa (cinco a dez por cento), moderada (11% a 30%), ou elevada (mais de 30%), e a severidade das alterações degenerativas graduada numa escala de um a quatro valores positivos, como sugerido por Harvey (2001) (tabela 20) [66].

### 3.2.3.3 Avaliação da morfologia dos eritrócitos

Com a ocular de 10X e a objetiva de 100X (magnificação de 1000X) procedeu-se à avaliação semiquantitativa da morfologia dos eritrócitos (tabela 21). Para o efeito, cada alteração morfológica identificada foi quantificada em cinco campos, sendo depois calculado o número médio por campo e atribuído o grau de alteração de acordo com a tabela 21.

A área ótima para avaliação tanto da morfologia como para a contagem de plaquetas, situa-se na metade frontal do esfregaço sanguíneo, atrás da margem em forma de cunha (ver figura 28). Nessa área as células devem estar dispersas em monocamada, estando os eritrócitos em estreito contacto com aproximadamente metade deles tocando outros eritrócitos. Devem evitar-se as zonas demasiado próximas à margem em cunha. Nessas áreas, os eritrócitos tendem a perder a forma bicôncava e, inerentemente, a zona de palidez central que lhes é característica, tornando a avaliação da morfologia, tamanho e cromasia errónea [3, 4, 66]. Quando a amostra sanguínea provém de animais com anemia grave, a monocamada do esfregaço sanguíneo pode não se formar, ficando os eritrócitos demasiado afastados. Nestes casos, a avaliação deve ser feita por cada dois campos [66].

### 3.2.3.4 Contagem de plaquetas

A contagem de plaquetas foi efetuada em cinco campos de objetiva de imersão (magnificação de 1000X), sendo depois calculado o número médio de plaquetas por campo.

De acordo com o número médio de plaquetas por campo obtido, este foi então classificado como diminuído (menos de dez plaquetas por campo), normal (entre dez e trinta plaquetas por campo) ou aumentado (mais de 30 plaquetas por campo), tendo sempre presente se foram identificados previamente agregados plaquetários aquando do varrimento grosseiro do esfregaço sanguíneo [66].

O número de plaquetas por microlitro de sangue foi estimado através da multiplicação do número médio de plaquetas por campo por 15.000 a 20.000 [6, 66].

A presença de macroplaquetas e plaquetas ativadas foi também registada.

**Tabela 20-** Escala de gradação da severidade das alterações degenerativas dos neutrófilos de acordo com o tipo de alterações observadas [adaptado de 67 referido por 66]

Corpos de Döhle	1+
Citoplasma basofílico	1+
Vacúolos citoplasmáticos	2+
Citoplasma azul acinzentado escuro com vacúolos	3+
Grânulos tóxicos	3+
Membrana nuclear indistinta	3+
Cariólise	4+

**Tabela 21-** Avaliação semiquantitativa da morfologia dos eritrócitos baseada no número médio de células anormais por campo, magnificação de 1000X [adaptado de 67 referido por 66]

Grau	Ocasional	1+	2+	3+	4+
<b>Policromasia (cães)</b>	<1	1-2	2-4	4-8	>8
<b>Policromasia (gatos)</b>	<1 (cada dois campos)	<1	1-2	3-5	>5
<b>Macrocitose</b>	Presença de células ligeiramente maiores; <1	Presença de células ligeiramente maiores; 1-2	Células ligeiramente maiores e células evidentemente maiores; 3-5	Células grandes; 5-10	Células grandes; >10
<b>Hipocromasia</b>	<1	1-10	11-50	51-200	>200
<b>Esferócitos</b>	<5	5-10	11-100	101-250	>250
<b>Equinócitos</b>					
<b>Acantócitos</b>	<1	1-2	3-8	9-20	>20
<b>Queratócitos</b>					
<b>Esquizócitos</b>					
<b>Leptócitos</b>					
<b>Codócitos</b>					
<b>Estomatócitos</b>					
<b>Eccentrócitos</b>					
<b>Eliptócitos</b>					
<b>Dacriócitos</b>					
<b>Células fantasma</b>					
<b>Corpos de Howell-Jolly</b>					
<b>Outros poiquilócitos</b>					
<b>Células vermelhas nucleadas</b>					

### 3.3 Resultados

Os resultados enunciados de seguida são relativos ao primeiro exame clínico, isto é aquando da execução do primeiro esfregaço sanguíneo e antes de instituir a antibioterapia específica. Embora os dados referentes aos esfregaços sanguíneos e hemogramas adicionais, realizados por ocasião da reavaliação de alguns pacientes, figurem nas tabelas, os mesmos são apenas para título informativo sobre a evolução em termos hematológicos dos pacientes.

#### 3.3.1 Contagem diferencial de leucócitos

Os valores relativos à contagem diferencial de leucócitos são apresentados na tabela 22.

**Tabela 22-** Contagem diferencial de leucócitos

Paciente	Data	Contagem diferencial de leucócitos								
		Neutrófilos			Eosinófilos	Basófilos	Granulócitos	Linfócitos	Monócitos	
		Maduros	Banda	Total						
Gatos	04.02.2014	60,50%	15,50%	76,00%	4,50%	0,00%	80,50%	17,00%	2,50%	
	14.02.2014	67,50%	9,50%	77,00%	3,00%	0,00%	80,00%	19,00%	1,00%	
	27.02.2014	68,00%	2,00%	70,00%	2,00%	0,00%	72,00%	27,00%	1,00%	
	20.03.2014	63,50%	2,00%	65,50%	6,50%	0,00%	72,00%	27,00%	1,00%	
	2	18.02.2014	85,00%	1,50%	86,50%	3,00%	0,00%	89,50%	10,00%	0,50%
	3	16.06.2014	48,50%	0,00%	48,50%	5,00%	0,00%	53,50%	44,50%	2,00%
	4	27.06.2014	82,00%	4,00%	86,00%	1,50%	0,00%	87,50%	9,50%	3,00%
Cães	5	03.03.2014	38,67%	1,33%	40,00%	4,00%	0,00%	44,00%	52,00%	4,00%
	6	15.03.2014	30,00%	7,00%	37,00%	2,00%	0,00%	39,00%	54,50%	6,50%
	7	31.03.2014	78,00%	8,50%	86,50%	2,00%	0,00%	88,50%	9,50%	2,00%
	8	19.04.2014	59,50%	1,50%	61,00%	6,00%	0,00%	67,00%	26,50%	6,50%
		24.05.2014	56,50%	1,50%	58,00%	8,00%	0,00%	66,00%	28,00%	6,00%
	9	17.05.2014	72,00%	2,50%	74,50%	0,00%	0,00%	74,50%	21,00%	4,50%
		02.06.2014	55,00%	3,00%	58,00%	2,00%	0,00%	60,00%	36,50%	3,50%
	10	21.05.2014	46,50%	1,00%	47,50%	4,00%	0,00%	51,50%	42,50%	6,00%
		06.06.2014	65,50%	3,50%	69,00%	3,00%	0,00%	72,00%	19,50%	8,50%
	11	24.05.2014	78,00%	6,00%	84,00%	0,50%	0,00%	84,50%	12,00%	3,50%
		04.06.2014	64,00%	4,50%	68,50%	7,00%	0,00%	75,50%	15,50%	9,00%
	12	31.05.2014	84,00%	8,50%	92,50%	0,00%	0,00%	92,50%	1,00%	6,50%
	13	11.06.2014	75,00%	0,50%	75,50%	8,00%	0,00%	83,50%	14,50%	2,00%
	14	13.06.2014	55,00%	0,00%	55,00%	0,50%	0,00%	55,50%	30,50%	14,00%
	15	14.06.2014	80,50%	0,50%	81,00%	0,00%	0,00%	81,00%	17,50%	1,50%
	16	14.06.2014	65,50%	6,00%	71,50%	9,50%	0,00%	81,00%	11,00%	8,00%
		20.06.2014	80,00%	1,00%	81,00%	2,00%	0,00%	83,00%	11,50%	5,50%
	17	03.07.2014	75,50%	1,00%	76,50%	0,50%	0,00%	77,00%	9,50%	13,50%
30.06.2014		76,00%	1,00%	77,00%	0,50%	0,00%	77,50%	21,00%	1,50%	

Com base na contagem diferencial de leucócitos (tabela 22) e no número absoluto de leucócitos, constante na tabela 23, os valores do leucograma foram recalculados (tabela 24).

Enquanto na tabela 23 são identificados 9/16 (56,25%) pacientes com alterações hematológicas, na tabela 24 foram identificados 14/16 (87,5%) pacientes. As alterações verificadas nos leucogramas fornecidos pelo analisador automático são coincidentes com as alterações encontradas nos leucogramas reajustados (à exceção do paciente “12” em que o equipamento de hematologia identificou uma linfocitose e que quando recalculado o número absoluto de linfócitos este sugere uma linfopenia). Esta ocorrência é provavelmente devida ao facto de na contagem diferencial de leucócitos ter-se obtido uma linfopenia relativa de um por cento (92,50% de neutrófilos e 6,50% de monócitos) e deste paciente apresentar uma leucocitose (3,2 vezes maior do que o limite superior do intervalo de referência) e granulocitose (3,7 vezes maior do que o limite superior do intervalo de referência) marcadas, essencialmente devidas a neutrofilia. Deste modo, as 200 células incluídas na contagem diferencial de leucócitos não terão sido suficientes para garantir a exatidão dos valores obtidos neste paciente. Por esta razão a linfopenia no paciente “12” (patente na tabela 24) foi desprezada.

No geral, pode-se constatar que a contagem diferencial de leucócitos e o respetivo cálculo dos valores absolutos acrescentou informação ao leucograma obtido pelo equipamento automático.

Da análise conjunta das tabelas 23 e 24 obteve-se que 3/16 (18,75%) dos pacientes tinham leucocitose, enquanto 2/16 (12,5%) dos pacientes estavam leucopénicos; 4/16 (25%) tinham granulocitose; 4/16 (25%) tinham aumento do número absoluto de neutrófilos em banda (desvio à esquerda) sem neutrofilia; 4/16 (25%) manifestaram neutrofilia com desvio regenerativo à esquerda; 4/16 (25%) tinham eosinopenia; 5/16 (31,25%) tinham linfocitose e 3/16 (18,75%) tinham linfopenia; e, 2/16 (12,5%) dos pacientes tinham monocitose, e outros tantos monocitopenia. Em nenhum dos pacientes verificou-se desvio degenerativo à esquerda.

Embora não seja possível determinar os números absolutos no leucograma dos pacientes “3” e “13”, pode-se inferir que provavelmente o paciente “3” teria uma linfocitose, salvo se este estivesse leucopénico, uma vez que a contagem diferencial de leucócitos aponta para uma frequência relativa de linfócitos muito próxima da frequência relativa de neutrófilos (44,50% e 48,50% respetivamente); e que o paciente “13”, à semelhança do paciente “16” (com uma frequência relativa de eosinófilos de 9,50% e um número absoluto correspondente de 1121 eosinófilos / $\mu$ L), teria um número absoluto de eosinófilos próximo do limite superior do intervalo de referência, dada a sua frequência relativa de eosinófilos ser de 8,00% e supondo que o seu número absoluto de leucócitos estaria dentro do intervalo de referência. Evidentemente, estas observações tratam-se apenas de especulações e para fazer-se uma análise mais rigorosa é imprescindível dispor do número absoluto de leucócitos.

### **3.3.2 Identificação de leucócitos com morfologia anormal**

Relativamente à presença de leucócitos com morfologia anormal, 6/14 (42,86%) cães e 2/4 (50%) gatos, continham linfócitos reativos. A categorização morfológica dos linfócitos reativos encontrados e a respetiva frequência relativa destes (percentagem de linfócitos reativos na população de linfócitos) está presente na tabela 25.

Em nenhum dos pacientes foi identificada a presença de neutrófilos degenerados. Nos neutrófilos dos gatos foram observados corpos de Döhle porém, a sua presença nesta espécie não é indicativa de toxicidade, pelo que não foi contabilizada.

### **3.3.3 Avaliação da morfologia dos eritrócitos**

A informação detalhada e resumida relativa às alterações morfológicas identificadas nos eritrócitos está patente nas tabelas 26 e 27, respetivamente.

As alterações mais frequentemente detetadas nos esfregaços sanguíneos dos gatos foram: presença de acantócitos (75%), queratócitos (75%), esquizócitos (50%), macrocitose (50%) e corpos de Howell-Jolly (50%). Nos cães, a presença de macrocitose (64,29%), acantócitos (64,29%), eliptócitos (57,14%), esquizócitos (50%) e hipocromasia (50%) foram as alterações mais comuns. A alteração mais frequente, comum a cães e gatos, foi a presença de acantócitos (66,67%).

Dada a repercussão das alterações morfológicas dos eritrócitos nos parâmetros do hemograma (nomeadamente da policromasia no VCM e no CHCM, da macrocitose no VCM, da anisocitose no *red cell distribution width* (RDW), e, em menor intensidade, da hipocromasia no CHCM), a informação relativa aos eritogramas dos pacientes é apresentada na tabela 28.

Da análise da tabela 28 temos que, 9/16 (56,25%) pacientes estavam anémicos, dos quais 5/9 (55,56%) tinham anemia leve, 3/9 (33,33%) tinham anemia moderada e 1/9 (11,11%) tinha anemia grave.

Com base no VCM, no CHCM e ainda no grau de policromasia as anemias foram classificadas em regenerativas e não regenerativas. Anemias macrocíticas e hipocrômicas e/ ou com policromasia num grau superior ou igual a um (1+) foram consideradas regenerativas. Por conseguinte, dos pacientes anémicos, 3/9 (33,33%) tinham anemia regenerativa e 6/9 (66,67%) tinham anemia não regenerativa.

A presença de *rouleaux* foi também registada e figura na tabela 29. No total obteve-se que 4/18 (22,22%) pacientes não manifestaram *rouleaux*, 7/18 (38,89%) pacientes apresentaram um grau ligeiro de *rouleaux*, 3/18 (16,67%) tinham um grau moderado e 4/18 (22,22%) apresentaram formações de *rouleaux* bastante evidentes e num grau elevado. De uma forma geral, os gatos tiveram graus de intensidade mais elevados comparativamente aos cães.

**Tabela 23-** Leucograma determinado pelo equipamento automático de hematologia  
a) [68 referido por 3 e 6]; b) [69 referido por 6]

Paciente	Data	Contagem automática						Intervalo de referência					
		Leucócitos (células/ $\mu$ L)	Granulócitos (células/ $\mu$ L)	(%)	Linfócitos (células/ $\mu$ L)	(%)	Monócitos (células/ $\mu$ L)	(%)	Leucócitos (células/ $\mu$ L)	Granulócitos (células/ $\mu$ L)	Linfócitos (células/ $\mu$ L)	Monócitos (células/ $\mu$ L)	
Gatos	04.02.2014	9.100	5.800	63,74%	3.000	32,97%	300	3,30%	a)	5.500-19.500	2.500-14.300	1.500-7.000	0-850
	14.02.2014	29.700	12.500	42,09%	15.600	52,53%	1.600	5,39%					
	27.02.2014	16.000	11.500	71,88%	3.900	24,38%	600	3,75%					
	20.03.2014	8.200	5.300	64,63%	2.500	30,49%	400	4,88%	b)	10.570-14.390	6.310-10.120	2.410-3.990	290-470
	27.02.2014	27.400	22.800	83,21%	3.900	14,23%	700	2,55%					
	16.06.2014	-	-	-	-	-	-	-					
27.06.2014	6.700	6.000	89,55%	500	7,46%	200	2,99%						
Cães	03.03.2014	9.300	6.400	68,82%	2.700	29,03%	200	2,15%	a)	6.000-17.000	3.100-13.050	1.000-4.800	150-1.350
	15.03.2014	9.000	3.300	36,67%	5.400	60,00%	300	3,33%					
	31.03.2014	16.600	13.300	80,12%	2.900	17,47%	400	2,41%					
	19.04.2014	7.500	5.100	68,00%	2.200	29,33%	200	2,67%					
	24.05.2014	4.900	3.700	75,51%	1.000	20,41%	200	4,08%					
	17.05.2014	6.800	5.600	82,35%	1.000	14,71%	200	2,94%					
	02.06.2014	13.300	10.000	75,19%	2.700	20,30%	600	4,51%					
	21.05.2014	13.400	7.500	55,97%	5.500	41,04%	400	2,99%					
	06.06.2014	19.000	15.500	81,58%	2.900	15,26%	600	3,16%					
	24.05.2014	8.800	7.600	86,36%	1.000	11,36%	200	2,27%					
	04.06.2014	13.700	10.000	72,99%	3.400	24,82%	300	2,19%					
	31.05.2014	54.900	47.700	86,89%	5.700	10,38%	1.500	2,73%					
	11.06.2014	-	-	-	-	-	-	-					
	13.06.2014	5.700	4.900	85,96%	600	10,53%	200	3,51%					
	14.06.2014	5.400	4.400	81,48%	800	14,81%	200	3,70%					
	14.06.2014	11.800	9.100	77,12%	2.300	19,49%	400	3,39%					
	20.06.2014	45.400	37.300	82,16%	7.500	16,52%	1.100	2,42%					
	03.07.2014	-	-	-	-	-	-	-					
30.06.2014	7.100	5.200	73,24%	1.600	22,54%	300	4,23%						

**Tabela 24-** Leucograma determinado com base na contagem diferencial de leucócitos  
a) [68 referido por 3 e 6]; b) [69 referido por 6]

Paciente	Data	Valores ajustados							Intervalo de referência						
		Neutrófilos / $\mu$ l			Eosinófilos	Basófilos	Linfócitos	Monócitos	Neutrófilos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos	Linfócitos	Monócitos	
		Maduros	Banda	Total	/ $\mu$ l	/ $\mu$ l	/ $\mu$ l	/ $\mu$ l	/ $\mu$ l	Banda / $\mu$ l	/ $\mu$ l	/ $\mu$ l	/ $\mu$ l	/ $\mu$ l	
Gatos	1	04.02.2014	5.505,50	1.410,50	6.916,00	409,50	0,00	1.547,00	227,50	2.500-12.500	0-300	0-1.500	raros	1.500-7.000	0-850
		14.02.2014	20.047,50	2.821,50	22.869,00	891,00	0,00	5.643,00	297,00						
		27.02.2014	10.880,00	320,00	11.200,00	320,00	0,00	4.320,00	160,00						
		20.03.2014	5.207,00	164,00	5.371,00	533,00	0,00	2.214,00	82,00						
Gatos	2	18.02.2014	23.290,00	411,00	23.701,00	822,00	0,00	2.740,00	137,00	6.100-9.480	0-300	200-610	10-30	2.410-3.990	290-470
	3	16.06.2014	-	-	-	-	-	-	-						
Cães	4	27.06.2014	5.494,00	268,00	5.762,00	100,50	0,00	636,50	201,00	3.000-11.500	0-300	100-1.250	raros	1.000-4.800	150-1.350
	5	03.03.2014	3.596,00	124,00	3.720,00	372,00	0,00	4.836,00	372,00						
	6	15.03.2014	2.700,00	630,00	3.330,00	180,00	0,00	4.905,00	585,00						
	7	31.03.2014	12.948,00	1.411,00	14.359,00	332,00	0,00	1.577,00	332,00						
	8	19.04.2014	4.462,50	112,50	4.575,00	450,00	0,00	1.987,50	487,50						
		24.05.2014	2.768,50	73,50	2.842,00	392,00	0,00	1.372,00	294,00						
	9	17.05.2014	4.896,00	170,00	5.066,00	0,00	0,00	1.428,00	306,00						
		02.06.2014	7.315,00	399,00	7.714,00	266,00	0,00	4.854,50	465,50						
	10	21.05.2014	6.231,00	134,00	6.365,00	536,00	0,00	5.695,00	804,00						
		06.06.2014	12.445,00	665,00	13.110,00	570,00	0,00	3.705,00	1.615,00						
	11	24.05.2014	6.864,00	528,00	7.392,00	44,00	0,00	1.056,00	308,00						
	12	04.06.2014	8.768,00	616,50	9.384,50	959,00	0,00	2.123,50	1.233,00						
	13	31.05.2014	46.116,00	4.666,50	50.782,50	0,00	0,00	549,00	3.568,50						
	14	11.06.2014	-	-	-	-	-	-	-						
	15	13.06.2014	3.135,00	0,00	3.135,00	28,50	0,00	1.738,50	798,00						
	16	14.06.2014	4.347,00	27,00	4.374,00	0,00	0,00	945,00	81,00						
	17	20.06.2014	36.320,00	454,00	36.774,00	908,00	0,00	5.221,00	2.497,00						
	18	03.07.2014	-	-	-	-	-	-	-						
18	30.06.2014	5.396,00	71,00	5.467,00	35,50	0,00	1.491,00	106,50							

**Tabela 25-** Frequência relativa de linfócitos reativos nos pacientes

Paciente	Data	Linfócitos reativos		
		Tipo II de Downey	Tipo III de Downey	
Gatos	1	04.02.2014	0,00%	0,00%
		14.02.2014	0,00%	0,00%
		27.02.2014	0,00%	5,56%
		20.03.2014	0,00%	0,00%
Cães	2	18.02.2014	35,00%	0,00%
	9	17.05.2014	14,29%	0,00%
		02.06.2014	1,37%	2,74%
	11	24.05.2014	16,67%	0,00%
		04.06.2014	0,00%	0,00%
	13	11.06.2014	6,90%	0,00%
	15	14.06.2014	0,00%	2,86%
	17	20.06.2014	0,00%	4,35%
		03.07.2014	0,00%	0,00%
	18	30.06.2014	45,24%	0,00%

**Tabela 26- Alterações da morfologia dos eritrócitos**

Paciente	Data	Policromasia	Macrocitose	Hipocromasia	Equinócitos	Acantócitos	Queratócitos	Esferócitos	Esquizócitos	Leptócitos	Codócitos	Estomatócitos	Eccentrócitos	Eliptócitos	Dacriócitos	Células fantasma	Corpos de Howell-Jolly	Outros poiquilócitos	Células vermelhas nucleadas		
Gatos	1	04.02.2014	-	-	ocas.	-	4+	2+	ocas.	2+	-	-	-	-	-	ocas.	-	-	ocas.	-	
		14.02.2014	3+	4+	2+	-	4+	2+	-	3+	-	-	-	-	-	2+	-	-	1+	2+	
		27.02.2014	2+	1+	1+	-	3+	3+	-	3+	-	-	-	-	-	2+	-	-	ocas.	-	
		20.03.2014	-	2+	-	-	3+	2+	-	ocas.	-	-	-	-	2+	ocas.	-	-	-	-	
		18.02.2014	-	ocas.	-	-	2+	ocas.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ocas.	-	ocas.	
Cães	3	16.06.2014	-	-	-	-	3+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	-	
		27.06.2014	-	1+	-	-	ocas.	-	-	ocas.	-	-	-	-	ocas.	-	ocas.	ocas.	2+	-	
		03.03.2014	-	1+	ocas.	-	1+	ocas.	-	1+	-	2+	-	-	ocas.	1+	-	-	1+	-	
		15.03.2014	ocas.	1+	-	-	2+	ocas.	-	-	-	-	-	-	ocas.	-	-	-	1+	-	
		31.03.2014	-	ocas.	1+	-	ocas.	-	-	ocas.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		8	19.04.2014	ocas.	ocas.	2+	-	-	-	-	ocas.	-	-	-	ocas.	ocas.	-	-	-	-	-
			24.05.2014	ocas.	ocas.	1+	-	1+	ocas.	-	ocas.	-	1+	-	-	1+	-	-	-	ocas.	-
		9	17.05.2014	-	-	4+	-	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ocas.	-
			02.06.2014	1+	3+	-	-	1+	-	-	ocas.	-	-	-	-	ocas.	ocas.	-	-	2+	ocas.
		10	21.05.2014	1+	1+	-	ocas.	-	-	-	ocas.	-	-	-	-	ocas.	ocas.	-	-	ocas.	-
			06.06.2014	ocas.	ocas.	ocas.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ocas.	-	-	-	-	-
		11	24.05.2014	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ocas.	ocas.	-	-	1+	-
			04.06.2014	1+	1+	-	-	ocas.	-	-	ocas.	-	-	-	-	ocas.	-	-	-	1+	-
		12	31.05.2014	ocas.	ocas.	1+	-	2+	-	2+	2+	-	1+	-	-	-	-	-	-	-	ocas.
		13	11.06.2014	-	ocas.	ocas.	-	2+	-	-	-	-	-	-	-	ocas.	-	-	-	ocas.	-
		14	13.06.2014	-	-	-	-	4+	1+	-	ocas.	-	-	-	1+	-	-	-	-	ocas.	-
		15	14.06.2014	-	-	-	-	1+	ocas.	-	-	-	-	-	ocas.	-	-	-	-	1+	-
		16	14.06.2014	-	ocas.	-	-	-	-	-	-	ocas.	-	-	-	-	-	-	-	1+	-
20.06.2014	1+		1+	4+	-	-	3+	-	ocas.	-	2+	ocas.	-	ocas.	-	ocas.	-	ocas.	ocas.		
17	03.07.2014	-	ocas.	3+	-	-	-	-	ocas.	-	3+	-	-	ocas.	-	-	-	ocas.	-		
	30.06.2014	-	-	-	-	ocas.	ocas.	-	-	-	-	ocas.	ocas.	ocas.	ocas.	-	-	1+	-		

**Tabela 27- Frequências absolutas e frequências relativas das alterações na morfologia dos eritrócitos**

	Gato					Cão					Total					
	ocasional	1+	2+	3+	4+	Total		ocasional	1+	2+	3+	4+	Total			
						Fi	Fr						Fi	Fr		
Policromasia	0	0	0	0	0	0	0,00%	3	2	0	0	0	5	35,71%	5	27,78%
Macrocitose	1	1	0	0	0	2	50,00%	5	4	0	0	0	9	64,29%	11	61,11%
Hipocromasia	1	0	0	0	0	1	25,00%	2	2	1	0	2	7	50,00%	8	44,44%
Equinócitos	0	0	0	0	0	0	0,00%	1	0	0	0	0	1	7,14%	1	5,56%
Acantócitos	1	0	1	0	1	3	75,00%	2	3	3	0	1	9	64,29%	12	66,67%
Queratócitos	1	0	1	1	0	3	75,00%	4	1	0	1	0	6	42,86%	9	50,00%
Esferócitos	1	0	0	0	0	1	25,00%	0	0	0	0	0	0	0,00%	1	5,56%
Esquizócitos	1	0	1	0	0	2	50,00%	5	1	1	0	0	7	50,00%	9	50,00%
Leptócitos	0	0	0	0	0	0	0,00%	1	0	1	0	0	2	14,29%	2	11,11%
Codócitos	0	0	0	0	0	0	0,00%	0	0	2	0	0	2	14,29%	2	11,11%
Estomatócitos	0	0	0	0	0	0	0,00%	2	1	0	0	0	3	21,43%	3	16,67%
Eccentrócitos	0	0	0	0	0	0	0,00%	3	1	0	0	0	4	28,57%	4	22,22%
Eliptócitos	1	0	0	0	0	1	25,00%	8	0	0	0	0	8	57,14%	9	50,00%
Dacriócitos	1	0	0	0	0	1	25,00%	3	1	0	0	0	4	28,57%	5	27,78%
Células fantasma	1	0	0	0	0	1	25,00%	1	0	0	0	0	1	7,14%	2	11,11%
Corpos de Howell-Jolly	2	0	0	0	0	2	50,00%	0	0	0	0	0	0	0,00%	2	11,11%
Outros poiquilócitos	1	1	1	0	0	3	75,00%	5	6	0	0	0	11	78,57%	14	77,78%
Células vermelhas nucleadas	1	0	0	0	0	1	25,00%	2	0	0	0	0	2	14,29%	3	16,67%

**Tabela 28- Eritrograma**  
a) [68 referido por 3 e 6]; b) [69 referido por 6]

Paciente	Data	Resultados							Intervalo de referência								
		Eritrócitos x10 <sup>6</sup> /µl	Hemoglobina (g/dl)	Hematócrito (%)	VCM (fl)	CHM (pg)	CHCM (g/dl)	RDW (%)	Eritrócitos x10 <sup>6</sup> /µl	Hemoglobina (g/dl)	Hematócrito (%)	VCM (fl)	CHM (pg)	CHCM (g/dl)	RDW (%)		
Gatos	04.02.2014	7,58	11,2	37,8	49,9	14,7	29,6	a)	5,0-10,0	8,0-15,0	24,0-45,0						
	14.02.2014	4,55	7,1	20,8	45,9	15,6	34,1									17,7	
	27.02.2014	6,11	10	30,7	50,3	16,3	32,5									17,9	
	20.03.2014	9,35	15,7	53,6	57,4	16,7	29,2									18,5	
2	18.02.2014	7,96	13,8	40,8	51,3	17,3	33,8	b)	5,92-11,16	8,17-15,26	24,0-46,0	39,0-52,0	13,0-21,0	30,0-38,0	14,0-18,0		
3	16.06.2014	-	-	-	-	-	-									-	
4	27.06.2014	3,6	4,3	15	41,8	11,9	28,6	15,2									
Cães	5	03.03.2014	3,33	11,1	34,5	103,9	33,3	32,1	a)	5,5-8,5	12,0-18,0	37-55	62,0-72,0	20,0-25,0	30,0-38,0	11,0-15,5	
	6	15.03.2014	6,98	16,6	49	70,3	23,7	33,8									13,4
	7	31.03.2014	6,47	15	45,6	70,5	23,1	32,8									13,4
	8	19.04.2014	4,24	8,2	26,6	62,8	19,3	30,8									15,6
	24.05.2014	5,02	9,8	31,8	63,5	19,5	30,8	16,1									
	9	17.05.2014	5,67	11,9	36,8	65	20,9	32,3									14,8
	02.06.2014	6,6	14,1	45,5	69	21,3	30,9	15,7									
	21.05.2014	4,75	10,7	34,3	72,3	22,5	31,1	14,4									
	10	06.06.2014	5,26	12,6	38,4	73,1	23,9	32,8									15,3
	24.05.2014	4,95	10,8	34,2	69,2	21,8	31,5	14,2									
	11	04.06.2014	5,21	12,2	37,4	71,9	23,4	32,6									16,2
	12	31.05.2014	3,69	8,4	29,4	79,8	22,7	28,5									16,4
	13	11.06.2014	-	-	-	-	-	-									-
	14	13.06.2014	6,32	14	44,8	70,9	22,1	31,2									12,1
	15	14.06.2014	6,67	14,8	47,6	71,5	22,1	31									13,8
	16	14.06.2014	5	10,9	36	72	21,8	30,2									16,2
	17	20.06.2014	2,44	5,3	16,6	68,1	21,7	31,9									17,6
	03.07.2014	-	-	-	-	-	-	-									-
18	30.06.2014	6	12,1	40	66,8	20,1	30,2	12,4									

**Tabela 29- Presença de rouleaux**

Paciente	Data	Ausente	Ligeiro	Moderado	Elevado	
Gatos	04.02.2014			X		
	14.02.2014		X			
	27.02.2014		X			
	20.03.2014		X			
2	18.02.2014			X		
3	16.06.2014				X	
4	27.06.2014			X		
Cães	5	03.03.2014	X			
	6	15.03.2014		X		
	7	31.03.2014	X			
	8	19.04.2014				X
	24.05.2014					X
	9	17.05.2014				X
	02.06.2014		X			
	21.05.2014		X			
	10	06.06.2014	X			
	24.05.2014	X				
	11	04.06.2014	X			
	12	31.05.2014				X
	13	11.06.2014		X		
	14	13.06.2014		X		
	15	14.06.2014		X		
	16	14.06.2014		X		
	17	20.06.2014	X			
	03.07.2014	X				
18	30.06.2014		X			

### 3.3.4 Contagem de plaquetas

Na tabela 30 são apresentados o número médio de plaquetas por *high power field (hpf)*, o número de plaquetas por microlitro e a percentagem de macroplaquetas, determinados aquando da avaliação do esfregaço sanguíneo, bem como os valores correspondentes à

contagem automática decorrentes da leitura do hemograma designadamente, número de plaquetas por microlitro e volume plaquetário médio (VPM).

Ao examinar-se a tabela 30 pode-se constatar que a contagem manual de plaquetas (número médio de plaquetas por *hpf* e plaquetas / $\mu$ L) identificou 14/18 (77,78%) pacientes trombocitopénicos, enquanto a contagem automática identificou 11/16 (68,75%) pacientes trombocitopénicos. No geral, os animais identificados com trombocitopenia no esfregaço sanguíneo coincidem com aqueles identificados através do hemograma, à exceção dos pacientes “5” e “16”, sendo que o paciente “16” tinha agregados plaquetários no seu esfregaço sanguíneo pelo que a contagem de plaquetas pode estar subestimada.

Relativamente ao número médio de plaquetas por *hpf*, verificou-se que os valores diminuídos (inferiores a 10 plaquetas por *hpf*) foram concordantes com as trombocitopenias identificadas pelo número estimado de plaquetas por microlitro na contagem manual. Contudo, alguns pacientes (pacientes “7” e “17”) com o número de plaquetas por microlitro dentro do intervalo de referência tiveram um número médio de plaquetas por *hpf* aumentado (superior a 30 plaquetas por *hpf*), embora esses aumentos sejam pouco significativos. O número médio de plaquetas por *hpf* foi útil quando o número estimado de plaquetas por microlitro situou-se entre valores que tanto podiam estar diminuídos ou normais relativamente ao intervalo de referência (paciente “2”), servindo como critério de decisão entre uma trombocitopenia e uma concentração plaquetária normal.

Dos 18 animais, 12 (66,67%) continham macroplaquetas detetáveis nos seus esfregaços sanguíneos.

Esporadicamente foram detetadas plaquetas ativadas.

**Tabela 30-** Contagem plaquetária (\* - presença de agregados plaquetários)  
a) [68 referido por 3 e 6]; b) [70 referido por 6]; c) [71 referido por 3]

Paciente	Data	Contagem manual			Contagem automática		Intervalo de referência		
		Número médio de plaquetas por <i>hpf</i>	Plaquetas / $\mu$ L	Macroplaquetas (%)	Plaquetas / $\mu$ L	VPM (fL)	Plaquetas / $\mu$ L	VPM (fL)	
Gatos	1	04.02.2014	0,50	7.500-10.000	20,00%	67.000	7,4	300.000-800.000	12-17
		14.02.2014	3,90	58.500-78.000*	0,00%	296.000	8,8		
		27.02.2014	27,20	408.000-544.000*	0,74%	708.000	9,5		
		20.03.2014	19,00	285.000-380.000	34,74%	319.000	9,6		
	2	18.02.2014	17,10	256.500-342.000	2,92%	156.000	11,1		
	3	16.06.2014	0,00	0*	0,00%	-	-		
	4	27.06.2014	1,80	27.000-36.000*	0,00%	30.000	6,4		
	5	03.03.2014	0,10	1.500-2.000	0,00%	283.000	10,5		
Cães	6	15.03.2014	2,40	36.000-48.000	50,00%	25.000	9,5		
	7	31.03.2014	31,40	471.000-628.000	3,18%	406.000	9,2		
	8	19.04.2014	3,00	45.000-60.000	10,00%	37.000	8,9		
		24.05.2014	4,20	63.000-84.000	19,05%	31.000	8,9		
	9	17.05.2014	2,60	39.000-52.000	53,85%	21.000	8,7		
		02.06.2014	11,60	174.000-232.000*	0,00%	164.000	9,9		
	10	21.05.2014	8,67	130.000-173.333	7,69%	88.000	11,6		
		06.06.2014	28,00	420.000-560.000	3,57%	431.000	-		
	11	24.05.2014	0,20	3.000-4.000	100,00%	12.000	7,3		
		04.06.2014	12,40	186.000-248.000	0,00%	187.000	9,4		
	12	31.05.2014	17,80	267.000-356.000	0,00%	307.000	10,6		
	13	11.06.2014	6,60	99.000-132.000	0,00%	-	-		
	14	13.06.2014	2,80	42.000-56.000	7,14%	56.000	11		
	15	14.06.2014	2,40	36.000-48.000	8,33%	69.000	9,7		
	16	14.06.2014	0,20	3.000-4.000*	0,00%	221.000	9,8		
	17	20.06.2014	30,40	456.000-608.000	0,66%	388.000	9,1		
		03.07.2014	28,00	420.000-560.000	0,00%	-	-		
18	30.06.2014	2,80	42.000-56.000	35,71%	31.000	8,2			

### 3.4 Discussão

Os diagnósticos de hemoparasitoses nos pacientes abrangidos neste estudo são maioritariamente presuntivos e feitos com base na anamnese, exame físico, exames complementares de diagnóstico e dados epidemiológicos.

Tendo em conta as espécies endémicas no nosso país e os poucos casos descritos de doença riquetsial e babesiose em felídeos, os gatos deste estudo foram diagnosticados com micoplasmose hemotrófica. Nenhum dos gatos foi suspeito de dirofilariose por não apresentarem sintomatologia consistente com essa doença.

Nos cães o leque de hemoparasitoses é mais vasto e inclui erlichiose monocítica, anaplasmose granulocítica, trombocitopenia cíclica infecciosa, babesiose, hepatozoonose e dirofilariose.

Apenas no paciente “8” foram realizadas provas serológicas, cujo resultado foi positivo para *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii* e *Leishmania* sp. O paciente “17” foi diagnosticado com leishmaniose noutro CAMV mas, desconhece-se a prova utilizada. Como a seropositividade para determinado agente patogénico apenas denota exposição prévia a esse agente e não infeção ativa, o diagnóstico nestes casos deve ser encarado como presuntivo.

O diagnóstico definitivo, mais concretamente dirofilariose, foi apenas alcançado nos pacientes “13” e “16”, uma vez que foram identificadas microfírias de *D. immitis* nos exames de gota fresca e respetivos esfregaços sanguíneos. Nos esfregaços sanguíneos dos restantes pacientes não foram detetados hemoparasitas.

Antes de iniciar a análise de qualquer valor no hemograma é importante conhecer em que princípio se baseia o equipamento automático utilizado. Os equipamentos automáticos mais comuns, tal como aquele utilizado para processamento das amostras sanguíneas no presente trabalho, baseiam-se na espectroscopia por impedância. Os laboratórios de referência atualmente dispõem de tecnologia mais avançada, nomeadamente a citometria de fluxo.

A contagem de leucócitos por impedância baseia-se no princípio descrito por Wallace Coulter em 1956. Este método determina o número de células nucleadas num volume definido de sangue diluído. Deste modo, o número absoluto de leucócitos por determinado volume de sangue, referido no leucograma, deve ser interpretado como a concentração total de células nucleadas, a qual representa a concentração total de leucócitos se não estiverem presentes células vermelhas nucleadas. Caso estejam presentes células vermelhas nucleadas, a sua contribuição para a concentração total de células nucleadas deve ser tida em consideração, pelo que a contagem de leucócitos estará sobrestimada [5].

Na contagem de leucócitos por citometria de fluxo, o instrumento dirige um feixe a laser às células enquanto estas passam numa amostra de sangue diluída. O sistema distingue as células de acordo com modo como estas dispersam a luz. Como as células vermelhas nucleadas dispersam a luz de uma forma diferente dos leucócitos, esta contagem determina com exatidão a concentração total de leucócitos [5].

Os intervalos de referência utilizados devem ser sempre concordantes com o estado fisiológico do animal a ser avaliado. Pelo que a idade, gestação, lactação e raça devem ser tidas em conta na procura dos valores de referência mais adequados para cada caso [3]. Também nos gatos os intervalos de referência para o leucograma são mais variáveis comparativamente ao cão, possivelmente devido à elevada percentagem de leucócitos no *pool* marginal do gato (cerca de 70%) [6], razão pela qual figuram dois intervalos de referência para os leucogramas nas tabelas 23 e 24.

Ainda que as concentrações de leucócitos sejam passíveis de erros, é recomendada a interpretação do hemograma com base nos valores absolutos e não nos valores percentuais. Uma percentagem é a expressão de um valor relativo, pelo que a identificação consistente das verdadeiras alterações no leucograma através destes valores torna-se bastante difícil. A título de exemplo, 80% de linfócitos podem ser encontrados numa amostra com linfocitose (número absoluto de linfócitos igual a 16.000/ $\mu$ L numa concentração total de leucócitos de 20.000/ $\mu$ L) ou com linfopenia (número absoluto de linfócitos igual a 800/ $\mu$ L numa concentração total de leucócitos de 1000/ $\mu$ L) [5].

Embora a contagem diferencial de leucócitos por si só apenas nos permita verificar se uma determinada linhagem de leucócitos está aumentada ou diminuída em proporção relativamente ao que é considerado normal, a informação que esta acarreta, complementada pelo valor absoluto de leucócitos e pelos restantes valores do leucograma, permite-nos estimar os valores absolutos da população de leucócitos detalhada, bem como conferir os valores disponibilizados pelos equipamentos automáticos, funcionando como controlo de qualidade.

A discriminação da população de leucócitos permite-nos diminuir o leque de diagnósticos diferenciais ou direcionar-nos para determinado diagnóstico, bem como auxilia na distinção dos processos agudos dos crónicos. A tabela 31 sumariza as alterações típicas do leucograma nas principais causas de leucocitose [5].

Embora na maioria dos pacientes tenham sido detetadas alterações nos leucogramas, essas alterações variaram entre pacientes, provavelmente por se encontrarem em fases distintas da doença.

A linfopenia identificada no paciente “12” foi desprezada e não consta nos dados estatísticos por acreditar-se que a exatidão da contagem diferencial de leucócitos ficou aquém do aceitável.

Há muitos fatores que influenciam a exatidão analítica da contagem diferencial de leucócitos, nomeadamente, a qualidade da amostra (idealmente sangue fresco sem coágulos), distribuição das células na lâmina (boa execução do esfregaço sanguíneo), perícia do microscopista (capacidade de identificar as células com precisão e exatidão) e o número de células incluído na contagem diferencial (quanto maior o número de células incluído na contagem maior a precisão) [6].

Dos três pacientes identificados com leucocitose (pacientes “2”, “12” e “17”), todos tiveram neutrofilias com desvio regenerativo à esquerda e dois deles tiveram linfocitose e

monocitose. Como acontece vulgarmente, estas leucocitoses são essencialmente devidas às neutrofilias, podendo constatar-se que a magnitude das neutrofilias é superior à magnitude das linfocitoses e monocitoses. De acordo com a tabela 31, estes leucogramas são compatíveis com processos inflamatórios crónicos.

A leucocitose resulta de um aumento na produção, redistribuição dos leucócitos do *pool* marginal para a circulação sanguínea, diminuição do seu uso, ou do conjunto destas alterações. As condições que mais frequentemente produzem leucocitose são: inflamação, resposta a glucocorticoides, resposta a catecolaminas e neoplasia [5].

Tendo em conta que a concentração de cada tipo de leucócito é determinada por diferentes fatores, é indispensável identificar quais os que estão aumentados e a contribuir para a leucocitose, de forma a averiguar a causa subjacente [5].

A interpretação de todos os dados laboratoriais deve ser integrada com as informações relativas à anamnese, exame físico e informação terapêutica do paciente [5].

Designadamente, muitos dos sinais clínicos manifestados pelos pacientes abrangidos neste estudo são sugestivos de inflamação e incluíram febre, linfadenomegalia, esplenomegalia, dilatação dos vasos episclerais, aumento dos enzimas FA, AST e ALT, hiperproteinemia, hiperglobulinemia, entre outros sinais que podem igualmente estar relacionados com a inflamação.

Como os glucocorticoides (hormonas ou drogas) podem alterar a distribuição e o uso dos leucócitos, deve-se ter presente o estado de stress do animal e se este foi recentemente medicado com glucocorticoides. Como explícito na metodologia, nenhum dos animais incluídos na presente análise haviam recebido glucocorticoides exógenos no último mês.

As catecolaminas (epinefrina e norepinefrina), por sua vez, podem alterar a distribuição dos leucócitos, pelo que idealmente deve-se registar quando o animal está excitado ou assustado por ocasião da colheita de sangue [5].

Adicionalmente, a magnitude das alterações no leucograma devem ser igualmente consideradas para efeitos de diferenciação das causas de leucocitose [5].

As catecolaminas desencadeiam a mudança dos neutrófilos do *pool* marginal para o *pool* circulante. Uma vez que as concentrações nos dois *pools* são idênticas no cão, não é expectável que uma neutrofilia fisiológica canina exceda em duas vezes o limite superior do intervalo de referência. No gato o *pool* marginal de neutrófilos é quase três vezes maior do que o *pool* circulante; assim, a neutrofilia fisiológica felina pode, em teoria, ser próxima de quatro vezes o limite superior do intervalo de referência [5].

Os glucocorticoides também provocam a mudança dos neutrófilos do *pool* marginal para o *pool* circulante podendo originar neutrofilia. A libertação de neutrófilos da medula óssea e a diminuição da migração dos neutrófilos para os tecidos também podem contribuir para a neutrofilia. A neutrofilia associada aos glucocorticoides é tipicamente menor do que duas vezes o limite superior do intervalo de referência e não é expectável que exceda em três vezes o limite superior do intervalo de referência [5].

Os estados inflamatórios e neoplásicos têm o potencial de originar leucocitoses mais pronunciadas do que as alterações fisiológicas ou a administração de glucocorticoides. A magnitude das neutrofilias neoplásicas ou inflamatórias pode variar de leve (inferior a 20.000/ $\mu$ L) a marcada (superior a 100.000/ $\mu$ L) [5].

Da análise da tabela 24 verifica-se que a magnitude das neutrofilias em 2/3 dos pacientes com leucocitose são superiores em três e quatro vezes o limite superior do intervalo de referência (paciente “12” e “17”). Por conseguinte, com base na informação anterior, são excluídas as causas fisiológicas de neutrofilia.

Nesta etapa, mais uma vez o exame do esfregaço sanguíneo exerce um papel fulcral, ao possibilitar na maioria das vezes a distinção de um processo inflamatório de um processo neoplásico. Numa neutrofilia inflamatória, está patente uma sequência ordenada de maturação no sangue, havendo mais neutrófilos maduros do que neutrófilos em banda e mais neutrófilos em banda do que metamielócitos, e assim progressivamente. Na maioria das neutrofilias neoplásicas, as células da linhagem granulocítica são pouco diferenciadas, sendo difícil estabelecer uma ordem cronológica de maturação celular. A leucemia mieloide constitui uma exceção, verificando-se predominantemente neutrófilos segmentados e em banda no esfregaço sanguíneo [5].

Deste modo, dos quatro processos causadores de leucocitose, a inflamação constitui a hipótese mais plausível para estes pacientes.

As leucopenias identificadas nos pacientes “14” e “15” eram leves (5.700 / $\mu$ L e 5.400 / $\mu$ L, respetivamente), tendo sido detetadas concomitantemente outras alterações ligeiras no leucograma as quais incluíram, linfopenia, eosinopenia e monocitopenia.

As leucopenias geralmente são conseqüentes a uma neutropenia, uma vez que os neutrófilos são os leucócitos mais abundantes no sangue periférico, e são um problema bastante comum em cães e gatos. Os mecanismos envolvidos na leucopenia são destruição imunomediada dos leucócitos, diminuição da produção e aumento da demanda pelos tecidos. Processos infecciosos, tóxicos e neoplásicos podem estar associados a esta alteração hematológica. É de salientar que a formação de coágulos na amostra, assim como o tempo prolongado de acondicionamento da amostra sanguínea no EDTA, podem potencialmente diminuir o número de leucócitos, quer pelo aprisionamento dos leucócitos no coágulo, quer pela formação de eventuais complexos neutrofilicos associados ao EDTA [11, 66].

Nenhum dos pacientes leucopénicos apresentou neutropenia absoluta, embora os valores estivessem próximos do limite inferior do intervalo de referência. Contudo, o paciente “14” apresentava uma neutropenia relativa de 55%.

A neutropenia tem sido registada na erlichiose monocítica e na anaplasose granulocítica, embora a incidência varie de estudo para estudo [11].

No caso particular da erlichiose monocítica, alguns autores referiram que a maioria dos animais afetados por esta doença desenvolveram neutropenia, enquanto outros observaram apenas uma neutropenia relativa [11].

Lilliehook (1997) observou uma diminuição transiente no número de neutrófilos nas infecções por *A. phagocytophilum* contudo, nenhum dos animais desenvolveu neutropenia absoluta [72]. Por sua vez, Kohn e seus colaboradores (2008) não registaram caso algum de neutropenia entre os 18 animais infetados com *A. phagocytophilum*; não obstante, mencionaram na sua discussão outro estudo com uma incidência de neutropenia de 13% em 22 cães [73].

As infecções por *Babesia* spp. também têm sido associadas a neutropenia. Em alguns estudos de cães naturalmente infetados com grandes piroplasmas, 36% a 73% dos animais desenvolveram neutropenia [11]. Meinkoth e seus colaboradores (2002) também identificaram neutropenia leve num cão e neutropenia grave em três cães, num estudo envolvendo cinco cães experimentalmente infetados com pequenos piroplasmas, uma semana pós-infecção [74].

Relativamente aos desvios à esquerda, verificou-se que 25% dos pacientes tinham um aumento do número absoluto de neutrófilos em banda sem neutrofilia e outros 25% tinham um desvio regenerativo à esquerda associado a neutrofilia.

Geralmente, um desvio à esquerda é indicativo de um processo inflamatório. Porém, um desvio à esquerda leve (inferior a 1.000 / $\mu$ L) pode ocorrer em resposta aos glucocorticoides [5].

É de salientar que nem todos os processos inflamatórios resultam em desvio à esquerda. Quando o estímulo inflamatório é leve, a medula óssea liberta essencialmente neutrófilos maduros, pelo que a libertação de neutrófilos em banda pode não ser suficiente para causar um desvio à esquerda. Além disso, durante um processo inflamatório crónico, tendencialmente desenvolve-se uma hiperplasia granulocítica que consegue dar resposta à demanda de neutrófilos pelos tecidos inflamados, pelo que a magnitude do desvio à esquerda diminui e eventualmente desaparece no decorrer deste processo [5].

Os desvios à esquerda podem compreender desde ligeiros aumentos nos neutrófilos em banda a alterações mais pronunciadas indicadas pela presença de metamielócitos, mielócitos e, em raras ocasiões, promielócitos e mieloblastos. O grau no qual as séries de neutrófilos são desviadas à esquerda está relacionado com a gravidade da causa subjacente [5].

Um desvio regenerativo à esquerda é considerado uma resposta adequada face a um processo inflamatório, uma vez que implica que os neutrófilos sejam introduzidos no sangue a uma taxa superior à taxa de uso e que a medula óssea está apta a maturar a maioria das células antes de as libertar [5].

Pelo contrário, um desvio degenerativo à esquerda é considerado uma resposta inapropriada à inflamação, porque a capacidade da medula óssea em suprir os neutrófilos ao sangue é excedida pela taxa de saída dos neutrófilos para os tecidos inflamados. Dada a elevada taxa de libertação de neutrófilos para a circulação sanguínea, o *pool* de neutrófilos maduros armazenados na medula é rapidamente consumido, resultando na libertação predominante de células imaturas [5].

A eosinopenia, identificada em 25% dos pacientes, é característica de processos inflamatórios agudos e da resposta aos glucocorticoides [5].

Os glucocorticoides endógenos e exógenos têm um forte efeito no número de eosinófilos no sangue e nos tecidos e o seu papel deve ser considerado na interpretação do número de eosinófilos. O stress e a inerente libertação de cortisol causam frequentemente eosinopenia [75]. Deste modo, alguns dos achados de eosinopenia inconsistentes com doença inflamatória aguda podem ser devidos à ação dos glucocorticoides endógenos.

Os pacientes “13” e “16” foram ambos diagnosticados com dirofilariose através de um exame de gota fresca positivo. Em comum tiveram uma eosinofilia relativa, com o número absoluto de eosinófilos do paciente “16” próximo do limite superior do intervalo de referência. Contudo, comparações adicionais não podem ser feitas, uma vez que não foi realizado o hemograma no paciente “13”. Embora os valores relativos nos forneçam alguma informação, essa informação não deixa de ser limitada, e avaliações mais fidedignas devem ser feitas com base nos valores absolutos.

As eosinofílias devem ser consideradas pistas na exploração de uma variedade de estados patológicos passíveis de as originar e são geralmente leves a moderadas (inferiores a 10.000 / $\mu$ L). As eosinofílias de maior magnitude (especialmente as superiores a 20.000 / $\mu$ L) estão comumente associadas à síndrome hipereosinofílica ou leucemia eosinofílica [5, 75].

Em muitas áreas geográficas, o parasitismo é a causa mais frequente de eosinofilia. Os eosinófilos conseguem matar parasitas e são atraídos para os tecidos com esse propósito. Os parasitas que fazem migrações nos tecidos do hospedeiro têm maior potencial de suscitar eosinofílias [75].

À semelhança de outros parasitas, também *Dirofilaria immitis* tem sido associada a eosinofílias. É de salientar que frequentemente a eosinofilia apenas é notada por um breve período de tempo. Tipicamente, a eosinofilia é observada poucas semanas depois da infeção por endoparasitas ou poucos meses depois da infeção por *Dirofilaria immitis*. Os valores elevados de eosinófilos circulantes são incomuns nas infeções por endoparasitas [75].

Assim, com base nos dados referidos anteriormente, pode-se supor que as eosinofílias relativas (e o número absoluto de eosinófilos próximo do limite superior do intervalo de referência), verificadas nos pacientes diagnosticados com dirofilariose, possam ser devidas à infeção pela *Dirofilaria immitis*. Além disso, presumindo que esses pacientes estariam stressados com a vinda ao veterinário, o número de eosinófilos pode ter descido e atingido valores dentro do intervalo de referência.

No que diz respeito ao número de linfócitos circulantes, verificou-se que 31,25% dos pacientes tinham linfocitose e 18,75% tinham linfopenia. Associados às linfocitoses foram detetados, concomitantemente, desvio regenerativo à esquerda sem neutrofilia, neutrofilia com desvio regenerativo à esquerda e monocitose; o conjunto destes dados é sugestivo da presença de um processo inflamatório crónico. Por sua vez, eosinopenia e monocitopenia estiveram associadas à linfopenia, o que é mais sugestivo de um processo inflamatório agudo.

As linfocitoses identificadas eram todas ligeiras (inferiores ao dobro do limite superior do intervalo de referência).

Tal como na neutrofilia fisiológica, a linfocitose fisiológica é determinada pela mudança dos linfócitos do *pool* marginal para o *pool* circulante. Portanto, numa linfocitose fisiológica não é suposto que esta exceda em duas vezes o limite superior do intervalo de referência nos cães embora, possa ser ligeiramente superior nos gatos [5].

No hipoadrenocorticism, a linfocitose é caracteristicamente leve (inferior ao dobro do limite superior do intervalo de referência).

A linfocitose inflamatória é também tipicamente leve mas, ocasionalmente, excede 30.000 linfócitos / $\mu$ L em resposta a um estímulo crónico [5].

A linfocitose neoplásica pode variar de leve a extrema (superior a 100.000 / $\mu$ L). Mas frequentemente é acompanhada da presença de linfócitos atípicos nos esfregaços sanguíneos.

Monocitose ligeira foi registada em 12,5% dos pacientes e esteve sempre associada à presença concomitante de neutrofilia com desvio regenerativo à esquerda e linfocitose. Estes dados são concordantes com doença inflamatória crónica.

Uma monocitose causada por glucocorticoides é normalmente leve (inferior a duas vezes o limite superior do intervalo de referência) e acompanhada por neutrofilia madura e linfopenia.

A monocitose inflamatória é também tipicamente leve mas, pode ocasionalmente exceder 10.000 / $\mu$ L. Geralmente é acompanhada por uma neutrofilia e a concentração de linfócitos concorrente pode variar de diminuída a aumentada, conforme se trate de um processo inflamatório agudo ou crónico, respetivamente.

A monocitose neoplásica (leucemia monocítica) é geralmente caracterizada por uma monocitose moderada a marcada (superior a 500.000 / $\mu$ L), sendo vulgarmente acompanhada da presença de muitas formas atípicas de monócitos visíveis no esfregaço sanguíneo.

Deste modo, as alterações no leucograma identificadas nos pacientes do presente trabalho em conjunto com os restantes dados clínicos são sugestivas de um processo inflamatório, nomeadamente infeccioso.

No que diz respeito à identificação de leucócitos com morfologia anormal, 8/18 (44,44%) pacientes apresentaram linfócitos reativos nos seus esfregaços sanguíneos, seis dos quais (75%) com percentagens de linfócitos reativos superiores a cinco por cento, o que é considerado significativo e indicativo de um processo inflamatório em curso com estimulação antigénica. A categoria morfológica que predominou foi o tipo II de Downey. Não foram detetados neutrófilos degenerados, embora tenham sido encontrados esporadicamente corpos de Döhle nos neutrófilos dos gatos. Porém, os corpos de Döhle em gatos são um achado bastante comum e carecem de significado clínico [10], pelo que não devem ser considerados alterações verdadeiramente tóxicas nesta espécie.

Relativamente à avaliação da morfologia dos eritrócitos, a presença de acantócitos foi a alteração mais frequente. A formação dos acantócitos pode estar relacionada com a vasculite imunomediada provocada pela infeção pelos hemoparasitas.

Como esperado, dado o gato ser mais propenso a dano oxidativo devido à deficiência no enzima glucuronil transferase, os queratócitos foram mais frequentemente encontrados nos

pacientes felinos. Os queratócitos podem resultar da ação nociva dos agentes oxidantes sobre os eritrócitos e nos gatos a sua formação é ainda potenciada pelo acondicionamento do sangue em EDTA [2, 4].

Os corpos de Howell-Jolly foram unicamente detetados nos esfregaços sanguíneos dos gatos num grau ocasional. Até um por cento dos eritrócitos felinos podem ter corpos de Howell-Jolly [2].

É de salientar, que algumas alterações morfológicas mesmo em pequeno número (grau ocasional) são de grande importância clínica e podem alertar para determinada condição patológica, pelo que não devem ser ignoradas. É o caso das células fantasma, cuja presença significa que ocorreu hemólise intravascular muito recentemente ou, menos provavelmente, que ocorreu hemólise após a colheita no tubo com anticoagulante [2]. Este tipo de alteração morfológica foi encontrada nos pacientes quatro “4” e “17” e reforça o diagnóstico de hemoparasitose nestes animais. Embora os parasitas possam causar hemólise por exercerem dano direto sobre os eritrócitos a componente imunomediada merece igual ou maior consideração.

Mais de metade dos pacientes, 9/16 (56,25%), estavam anémicos na altura do diagnóstico, a maioria deles com anemias leves. Verificou-se também que 66,67% das anemias (6/9) eram não regenerativas. Contudo, se olharmos para os dados referentes às reavaliações conclui-se que algumas evoluíram para anemias regenerativas (paciente “9” e “11”).

As anemias devidas às infeções por riquetsias, *Hepatozoon canis* e *Dirofilaria immitis* são tipicamente ligeiras e não regenerativas [21, 22, 23, 24]. Enquanto as anemias devidas a *M. haemofelis* e *Babesia* spp. são tipicamente mais pronunciadas (moderadas a graves) e regenerativas [38, 39, 48].

É de salientar que infeções concomitantes podem intensificar a anemia. Exemplo disso são os pacientes “8” e “17” com anemias moderada e grave, respetivamente. O paciente “8” foi seropositivo para *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii* e *Leishmania* sp. e o paciente “17” foi diagnosticado noutra CAMV com leishmaniose. Dada a magnitude da anemia do paciente “17” (16,6% de hematócrito) e da resposta bastante positiva à antibioterapia com doxiciclina, acredita-se que este paciente, para além ter leishmaniose, também estaria infetado com *E. canis* ou com *A. phagocytophilum*.

Deve-se ter presente que, embora algumas anemias provocadas por hemoparasitas sejam caracteristicamente regenerativas, quando estas infeções estão numa fase aguda pode ainda não ter decorrido tempo suficiente para ocorrer a regeneração eritroide face à anemia, o que se vai traduzir numa anemia não regenerativa.

Na categorização de uma anemia em regenerativa e não regenerativa devemos ter em consideração o índice de produção de reticulócitos, o grau de policromasia, anisocitose, hipocromasia, presença de células vermelhas nucleadas e corpos de Howell-Jolly, VCM, CHCM e RDW.

O RDW, o qual representa a variabilidade individual no tamanho dos eritrócidos, é um indicador mais sensível do que o VCM, pois detecta alterações no tamanho dos eritrócitos mais cedo [3].

O gato exibe naturalmente alguma anisocitose e corpos de Howell-Jolly, e a presença de células vermelhas nucleadas está frequentemente associada à infecção pelo FeLV, pelo que estes achados não são indicadores fidedignos de regeneração nesta espécie [2, 4, 6].

A policromasia, a seguir ao índice de produção de reticulócitos, é o parâmetro mais útil na avaliação da resposta regenerativa face à anemia [4]. Deste modo, mesmo quando a anemia é normocrômica e normocítica, se tiver um grau de policromasia igual ou superior a um valor positivo (1+) deve ser considerada regenerativa.

Os policromatófilos não são mais que reticulócitos identificados nas colorações de tipo Romanowsky. Contudo, nem todos os reticulócitos são passíveis de ser identificados como policromatófilos nas colorações de rotina [2].

A libertação de reticulócitos da medula óssea canina apresenta um padrão cíclico e uma periodicidade de aproximadamente 14 dias. Nos cães a policromasia correlaciona-se bem com a reticulocitose [3].

Os felinos aparentam ter um tempo de maturação dos reticulócitos prolongado comparativamente ao cão. Por conseguinte, os reticulócitos do gato podem ser diferenciados em dois tipos: *agregata* e *punctata*. Os reticulócitos *agregata* são maiores do que os eritrócitos maduros e contêm uma quantidade de ARN residual e organelas (polirribossomas e mitocôndrias). Os reticulócitos *punctata* podem ser similares em tamanho aos eritrócitos maduros e contêm menos ARN [6]. Dado o fraco conteúdo em ARN, os reticulócitos *punctata* não originam policromatófilos quando corados com colorações do tipo Romanowsky [2].

Nos gatos, face a uma anemia leve, a medula óssea liberta essencialmente reticulócitos *punctata* [2]. Assim, os policromatófilos nos gatos aparecem tendencialmente em anemias mais graves do que nos cães, quando os reticulócitos *agregata* começam a ser libertados.

A formação de *rouleaux* resulta da presença de proteínas inflamatórias no plasma, pelo que a sua presença é indicativa da ocorrência de processos inflamatórios ou de desordens linfoproliferativas produtoras de imunoglobulinas [2, 4, 5]. Dos 18 pacientes, 14 (77,78%) evidenciaram a presença de *rouleaux*. É de salientar que os gatos exibem normalmente algum *rouleaux*, pelo que um grau ligeiro de *rouleaux* num gato carece de importância clínica. Dada a natural presença de algum *rouleaux* nos gatos, estes têm maior propensão para o desenvolvimento de graus mais elevados de *rouleaux*.

A trombocitopenia foi a alteração hematológica mais comum. Cerca de 83,33% dos animais estavam trombocitopénicos.

Muitos processos inflamatórios, infecciosos ou não infecciosos, podem produzir trombocitopenia por um conjunto de mecanismos que incluem supressão da produção, alteração na distribuição, aumento do consumo, ou aumento da destruição de plaquetas. Por

outro lado, algumas citocinas produzidas durante processos inflamatórios estimulam a trombopoiese, podendo produzir trombocitose reativa [5].

Na maioria dos esfregaços sanguíneos (66,67%) foram detetadas macroplaquetas.

A presença de macroplaquetas indica trombopoiese ativa e nos animais trombocitopénicos sugerem que a causa da trombocitopenia não reside na diminuição da produção pela medula óssea [14].

A combinação das características macrocíticas das plaquetas felinas e a propensão destas para formarem coágulos, frequentemente provocam contagens automáticas de plaquetas erróneas. Assim, nos gatos, a estimação do número de plaquetas através da contagem manual assume um papel de maior importância do que no cão [4, 6].

A contagem plaquetária no paciente “2” (tabela 30) ilustra a necessidade de confirmar a concentração plaquetária determinada pelos equipamentos automáticos nos gatos. De acordo com a contagem automática este paciente estaria trombocitopénico. Contudo, a contagem manual revelou um número médio de plaquetas por *hpf* e uma concentração plaquetária normais.

**Tabela 31-** Principais padrões de leucocitose baseados na concentração de leucócitos (↑ - superior ao intervalo de referência; ↓ - inferior ao intervalo de referência; N – normal, dentro do intervalo de referência; ? – desconhecido; a – espera-se que a concentração da linha celular neoplásica esteja aumentada mas, as concentrações das restantes células estão tipicamente dentro dos intervalos de referência ou diminuídas) [adaptado de 9 referido por 5]

Padrão do leucograma	Contagem de leucócitos	Neutrófilos segmentados	Neutrófilos não segmentados	Linfócitos	Monócitos	Eosinófilos
Inflamação aguda	↑	↑	↑	↓	N ou ↑	↓ ou N
Inflamação crónica	↑	↑	N ou ↑	N ou ↑	N ou ↑	N
Glucocorticoides	↑	↑	N ou ligeiramente ↑	↓	↑	↓
Leucocitose fisiológica	↑	↑	N	↑	N ou ↑	N
Neoplasia sanguínea	↑↑↑ <sup>a</sup>	?	?	?	?	?

## CAPÍTULO IV- CASOS CLÍNICOS

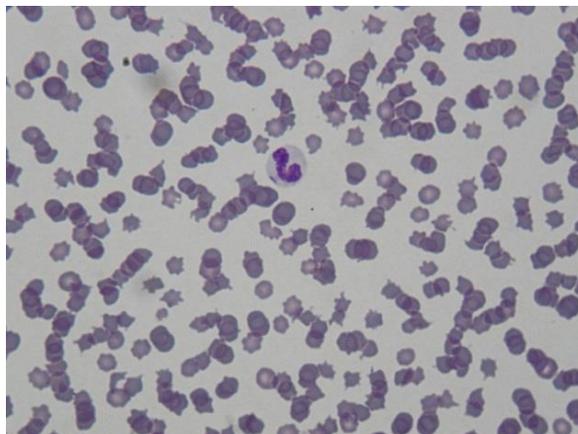
### 4.1 Paciente 1

#### 4.1.1 Apresentação do caso

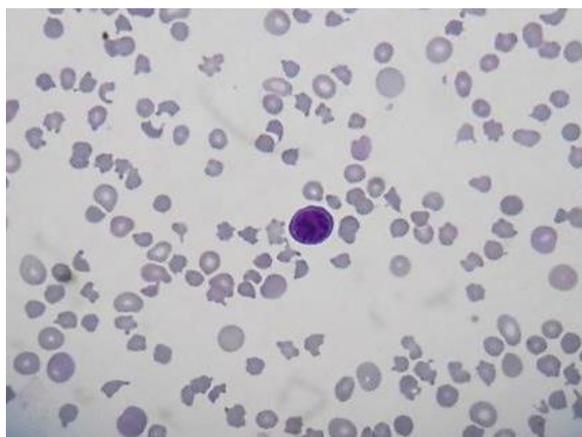
Um gato siamês, macho castrado, com quatro anos de idade, foi apresentado no Hospital Veterinário de Loulé (Loulé, Portugal) com alterações neurológicas e uma história de desaparecimento há cerca de um a dois meses atrás. O gato tinha livre acesso ao interior e exterior da sua casa e havia sido vacinado no ano anterior para o vírus da rinotraqueíte felina, calicivírus felino e vírus da panleucopénia felina, não fazendo controlo de ectoparasitas e endoparasitas desde essa data. O *status* FIV e FeLV era desconhecido, nunca tendo sido testado.

No exame físico apresentou temperatura, pulso, frequência respiratória, tempo de repleção capilar e cor das membranas mucosas dentro dos limites normais. Apresentava-se ligeiramente desidratado, com uma percentagem de desidratação estimada entre cinco e oito por cento, e baixa condição corporal, pontuada em três numa escala de nove valores (3/9). No exame neurológico mostrou ataxia, défice proprioceptivo nos membros posteriores, *circling* para a esquerda, nistagmus e ausência dos reflexos pupilar e de ameaça.

As alterações identificadas no hemograma foram trombocitopenia moderada (67.000 / $\mu$ L, intervalo de referência 300.000-800.000 / $\mu$ L) e aumento do número absoluto de neutrófilos em banda (1.411 / $\mu$ L, intervalo de referência 0-300 / $\mu$ L) sem neutrofilia. O exame do esfregaço sanguíneo identificou *rouleaux* moderado, hipocromasia ocasional, acantócitos (4+), queratócitos (2+), esferócitos (ocasional), esquizócitos (2+), dacriócitos (ocasional), entre outros poiquilócitos (ocasional) (figura 29); a trombocitopenia foi confirmada por contagem manual e foi estimada a percentagem de macroplaquetas em 20%.



**Figura 29-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de corpos de Döhle em neutrófilo. Poiquilocitose. (Hemacolor® X400).



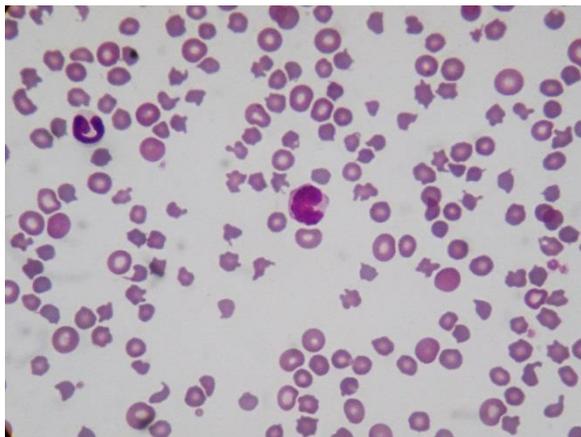
**Figura 30-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de rubricito. Poiquilocitose e anisocitose. (Hemacolor® X400).

Os resultados das bioquímicas séricas incluíram aumento moderado do enzima FA (940 U/L, intervalo de referência 23-118 U/L), hiperbilirrubinemia (1,9 mg/dL, intervalo de referência 0,1-0,4 mg/dL), hiperglicemia (187 mg/dL, intervalo de referência 71-148 mg/dL) e diminuição ligeira na creatinina (0,6 mg/dL, intervalo de referência 0,8-1,8 mg/dL).

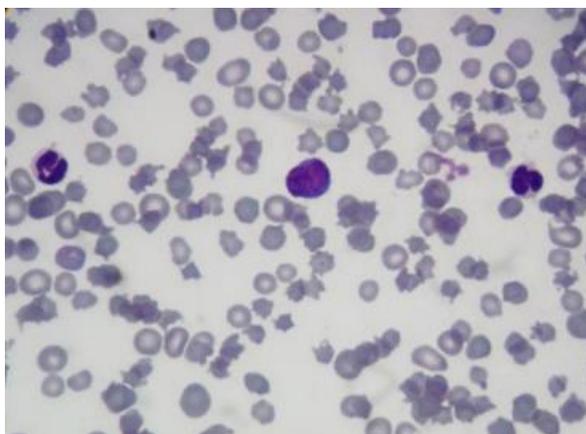
O paciente foi hospitalizado nesse dia, tendo sido reidratado com fluidos intravenosos (Lactato de Ringer) e medicado com metilprednisolona (1 mg/Kg, por via intravenosa lenta, uma vez por dia, durante dois dias), ranitidina (2,5 mg/Kg, por via intravenosa lenta, duas vezes por dia, durante dois dias) e enrofloxacina (5 mg/Kg, por via intravenosa, uma vez por dia).

Dois dias após a apresentação inicial, o paciente encontrava-se alerta e com apetite, e os sinais neurológicos haviam sido atenuados embora ainda evidentes (menos atáxico, ainda com déficit proprioceptivo nos membros posteriores mas, já a conseguir ir à sua caixa de areia, *circling* inconstante, sem nistagmus, reflexo pupilar mínimo e ausência do reflexo de ameaça). Nesse dia, foi-lhe concedida alta médica tendo-lhe sido prescrito enrofloxacina (5,8 mg/Kg, administrados por via oral, cada 24 horas) e prednisolona (1,2 mg/Kg, administrados por via oral, cada 12 horas) até novas indicações.

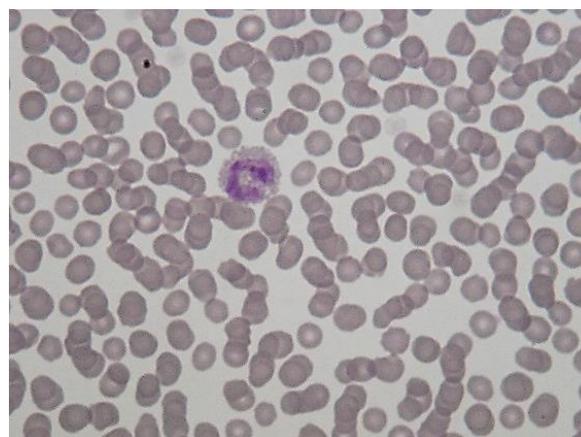
No dia 11 (10 dias após a apresentação inicial), o paciente mostrava indícios de recuperação embora, bastante lenta. Apresentava-se mais ativo mas, com



**Figura 31-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de eritroblasto. Poiquilocitose e anisocitose. (Hemacolor® X400).



**Figura 32-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de dois neutrófilos e linfócito (no meio). Poiquilocitose e anisocitose. (Hemacolor® X400).



**Figura 33-** Esfregaço de sangue de felídeo. Presença de basófilo. (Hemacolor® X1000).

a mesma descoordenação motora. O déficit proprioceptivo estava menos pronunciado, não manifestava *circling*, tinha o reflexo pupilar normal porém, o reflexo de ameaça era diminuto. Tinha também hiporexia e as membranas mucosas pálidas.

Por essa ocasião, o hemograma e esfregaço sanguíneo foram repetidos. Da leitura direta do hemograma identificou-se: anemia ligeira, normocrômica, normocítica (hematócrito 20,8%, intervalo de referência 24-46%; CHCM 34,1 g/dL, intervalo de referência 30-38 g/dL; VCM 45,9 fL, intervalo de referência 39-52 fL), trombocitopenia leve (296.000 / $\mu$ L, intervalo de referência 300.000-800.000 / $\mu$ L), leucocitose (29.700 / $\mu$ L, intervalo de referência 5.500-19.500 / $\mu$ L), linfocitose (15.600 / $\mu$ L, intervalo de referência 1.500-7.000), monocitose (1.600 / $\mu$ L, intervalo de referência 0-850 / $\mu$ L). Contudo, após a contagem diferencial de leucócitos manual e respetiva determinação do leucograma com base nestes valores e no número absoluto de leucócitos obtido previamente, verificou-se que o número de linfócitos e monócitos encontravam-se dentro dos intervalos de referência (linfócitos 5.643 / $\mu$ L, intervalo de referência 1.500-7.000 / $\mu$ L; monócitos 297 / $\mu$ L, intervalo de referência 0-850 / $\mu$ L), identificando-se apenas uma neutrofilia com desvio regenerativo à esquerda (neutrófilos maduros 20.048 / $\mu$ L, intervalo de referência 2.500-12.500 / $\mu$ L; neutrófilos em banda 2.822 / $\mu$ L, intervalo de referência 0-300 / $\mu$ L). A restante análise do esfregaço sanguíneo revelou *rouleaux* ligeiro, anisocitose, hipocromasia (2+), policromasia (3+), macrocitose (4+), acantócitos (4+), queratócitos (2+), esquizócitos (3+), dacriócitos (2+), outros poiquilócitos (1+), e células vermelhas nucleadas (2+), as quais incluíram metarubricitos, rubricitos, prorubricitos e eritroblastos (figuras 3, 23, 30, 31, 32); a trombocitopenia foi confirmada no esfregaço sanguíneo, não tendo sido detetadas macroplaquetas. As figuras 3, 23, 30, 31 e 32 são referentes ao dia 11.

Perante estes resultados, a enrofloxacina foi descontinuada, tendo sido introduzidas a doxiciclina (5 mg/Kg, administrados por via oral, cada 12 horas, durante 28 dias) e a mirtazapina (3,75 mg/ gato, administrados por via oral, cada três dias, num total de três administrações). A dosagem da prednisolona foi aumentada para 1,7 mg/Kg, administrados por via oral, duas vezes por dia.

Quando voltou para reavaliação, no dia 16, o paciente encontrava-se mais ativo, menos atáxico, o déficit proprioceptivo era menos evidente e o reflexo de ameaça, embora ainda diminuído, tinha sofrido uma melhoria ligeira. O apetite havia voltado e as membranas mucosas ainda aparentavam estar pálidas.

O desmame do glucocorticoide foi iniciado no dia 17, de acordo com a seguinte posologia: 0,6 mg/Kg, por via oral, duas vezes por dia, durante sete dias; 0,9 mg/Kg, por via oral, uma vez por dia, durante cinco dias; 0,3 mg/Kg, por via oral, duas vezes por dia, durante cinco dias; 0,3 mg/Kg, por via oral, uma vez por dia, durante quatro dias). A restante terapêutica não sofreu alterações.

No dia 24, o paciente continuava a dar sinais de evolução positiva. A sintomatologia nervosa (referida anteriormente) era claramente menos notória, embora ainda patente.

Os valores do hematócrito e concentração plaquetária tinham aumentado, atingindo os respectivos intervalos de referência (hematócrito 30,7%, intervalo de referência 24-46%; plaquetas 708.000 / $\mu$ L, intervalo de referência 300.000-800.000 / $\mu$ L), e a única alteração identificada no leucograma era um ligeiro desvio à esquerda (neutrófilos em banda 320 / $\mu$ L, intervalo de referência 0-300 / $\mu$ L). O exame do esfregaço sanguíneo revelou *rouleaux* ligeiro, anisocitose, hipocromasia (1+), policromasia (2+), macrocitose (1+), acantócitos (3+), queratócitos (3+), esquizócitos (3+), dacriócitos (2+) e outros poiquilócitos (ocasional) (figura 4); a contagem de plaquetas foi confirmada manualmente, tendo sido identificadas algumas macroplaquetas, cujo valor percentual rondou os 0,74%.

Adicionalmente, foi determinada a concentração sérica do enzima FA, a qual estava ligeiramente aumentada (281 U/L, intervalo de referência 9-53 U/L).

No dia 45, uma semana após término da doxiciclina e da prednisolona, a ataxia, ainda que presente, era muito menos evidente. O reflexo de ameaça continuou diminuído.

As alterações constantes no hemograma foram: policitemia (hematócrito 53,6%, intervalo de referência 24-46%), macrocitose (VCM 57,4 fL, intervalo de referência 39-52 fL), hipocromasia (CHCM 29,2 g/dL, intervalo de referência 30-38 g/dL) e anisocitose (RDW 18,5%, intervalo de referência 14,0-18,0%). No esfregaço sanguíneo foram identificados macrocitose (2+), acantócitos (3+), queratócitos (2+), esquizócitos (ocasional), eliptócitos (2+) e dacriócitos (ocasional) (figura 33); o número de plaquetas foi confirmado por contagem manual, tendo sido identificada uma população bastante representativa de macroplaquetas (37, 74%).

A concentração de FA sérica tinha diminuído relativamente ao último controlo analítico mas, ainda apresentava um aumento ligeiro (175 U/L, intervalo de referência 9-53 U/L).

#### **4.1.2 Interpretação hematológica**

O resumo dos resultados do hemograma e exame do esfregaço sanguíneo figura na tabela 32.

Ambas as alterações identificadas no hemograma no primeiro dia (desvio à esquerda sem neutrofilia e trombocitopenia) são sugestivas da presença de um processo inflamatório. Os desvios à esquerda em resposta aos glucocorticoides endógenos são tipicamente leves (inferiores a 1.000 / $\mu$ L) [5], pelo que é mais plausível que o desvio à esquerda moderado (1.411 / $\mu$ L) seja consequência de um processo inflamatório. Além disso, baseado no grau de trombocitopenia, o qual é moderado, pode-se admitir que haja uma componente imunomediada na destruição das plaquetas. A presença de macroplaquetas indica trombopoiese ativa [14], pelo que a causa de trombocitopenia inevitavelmente não reside na disfunção da medula óssea.

As alterações na morfologia dos eritrócitos identificadas aquando do exame do esfregaço sanguíneo são compatíveis com inflamação e hemólise. As alterações sugestivas de inflamação incluem: *rouleaux* (associado ao aumento de proteínas inflamatórias, podendo

haver hiperproteinemia e hiperglobulinemia concorrentes), acantócitos, queratócitos, esferócitos e esquizócitos (a presença concomitante destas alterações pode estar associada a vasculite). As alterações sugestivas de hemólise incluem: esferócitos e esquizócitos [2, 4, 5]. A presença de dacriócitos pode ser indicativa de afeção mieloproliferativa [2].

A leitura do eritrograma no dia 11 era indicativa de uma anemia leve não regenerativa, normocrômica, normocítica contudo, acrescentando os dados obtidos da análise do esfregaço, mais concretamente policromasia (3+), macrocitose (4+), hipocromasia (2+) e anisocitose, concluiu-se que a anemia era regenerativa.

Relativamente à concentração plaquetária, esta havia sofrido um aumento significativo desde o primeiro dia, provavelmente em resposta à terapêutica com prednisolona, confirmando-se a componente imunomediada na destruição plaquetária.

Quanto às alterações detetadas no leucograma determinado pelo equipamento automático, verificou-se que as mesmas não eram concordantes com os valores determinados com base na contagem diferencial de leucócitos. A resposta à causa desta discordância está patente na análise do respetivo esfregaço sanguíneo. Mais concretamente, foram detetadas no esfregaço sanguíneo numerosas células vermelhas nucleadas, pelo que o número absoluto de leucócitos determinado pelo equipamento automático (o qual se baseia na impedância) estaria inevitavelmente sobrestimado. A linfocitose e a monocitose são questionáveis pela mesma razão. A tecnologia baseada na impedância faz a distinção das células com base na presença e ausência de núcleo celular e, adicionalmente, com base no diâmetro celular [5]. Deste modo, para além das células vermelhas nucleadas poderem ser confundidas com leucócitos, os metarubricitos e alguns rubricitos são frequentemente assumidos como linfócitos, e os prorubricitos, rubriblastos e alguns rubricitos são considerados monócitos. A neutrofilia identificada após ajuste dos valores com base na contagem diferencial de leucócitos, assim como a diminuição do grau de *rouleaux* podem ser devidos à terapêutica com prednisolona.

Embora a presença de células vermelhas nucleadas no sangue periférico possa ser indicativa de forte resposta regenerativa face à anemia [2, 4], perante uma anemia leve, não seria esperado ser tão marcada (quer em termos numéricos quer em termos de envolver estádios bastante imaturos, podendo ser observados desde metarubricitos até alguns eritroblastos). Além disso, tratando-se de um gato de *status* FIV e FeLV desconhecido não se pode descartar a possibilidade da presença de células vermelhas nucleadas ser devida a infeção concorrente com um retrovírus o qual predispõe a neoplasia eritóide [4].

No dia 24, duas semanas após iniciar o tratamento com doxiciclina, tanto o hematócrito como a concentração plaquetária atingiram valores dentro dos intervalos de referência, o que confirma a eficácia da terapêutica. As alterações na morfologia dos eritrócitos foram semelhantes às detetadas aquando da avaliação anterior, à exceção que não foram encontradas células vermelhas nucleadas.

No dia 45, constatou-se que tanto o hematócrito como o VCM e RDW tinham vindo a aumentar, e o CHCM a diminuir, desde o dia 11, pelo que de uma anemia normocítica normocrômica, passou-se para uma policitemia com macrocitose, hipocromasia e anisocitose.

Como a determinação do hematócrito é feita com base no VCM e na contagem de eritrócitos ( $HCT = VCM \times \text{número de eritrócitos} \div 10$ ), um aumento em qualquer um desses parâmetros irá repercutir-se num aumento do hematócrito [4]. Neste caso em particular, o número de eritrócitos, embora compreendido no intervalo de referência, aproxima-se do limite superior ( $9,35 \times 10^6 / \mu L$ , intervalo de referência  $5,0-10,0 \times 10^6 / \mu L$ ) e o VCM está acima do intervalo de referência, pelo que ambos contribuem para o aumento do hematócrito.

Uma policitemia relativa pode ser encontrada em animais com leucocitose fisiológica concomitante, uma vez que as catecolaminas estimulam a contração esplênica, a qual resulta na ejeção de sangue rico em eritrócitos para a circulação sistémica. Contudo, esta resposta não é espectável em gatos, uma vez que estes carecem naturalmente de fibras musculares no baço e de sinusoides esplênicos [5]. Os animais desidratados também podem mostrar uma policitemia relativa porém, não era o caso deste paciente.

Assim, a origem da policitemia neste paciente reside no aumento da taxa de produção e libertação de eritrócitos.

Sykes (2010) refere que também as infeções por *M. haemofelis* estão associadas com valores elevados do VCM, sugerindo o aumento da taxa de produção e libertação de eritrócitos induzido pelo hemoplasma [40].

O número de poiquilócitos também tinha vindo a diminuir gradualmente, o que é um sinal de recuperação.

A alteração mais significativa em termos do tipo de poiquilócitos presentes no sangue periférico foi o surgimento de eliptócitos (2+), detetados aquando da avaliação do esfregaço sanguíneo no dia 45. Esta alteração reforça a ideia de possível desenvolvimento de neoplasia eritroide associada ao FeLV, uma vez que nos gatos está descrita a presença de eliptócitos em casos de afeções mieloproliferativas [2].

#### **4.1.3 Interpretação de resultados adicionais**

Os dados relativos às bioquímicas séricas constam na tabela 33.

Tanto o aumento do enzima FA como a hiperbilirrubinemia são consistentes com hemólise. A hiperglicemia leve é provavelmente devida ao stress. A diminuição leve na creatinina é devida à baixa condição corporal.

A FA sérica foi monitorizada ao longo do tratamento, tendo-se verificado uma diminuição progressiva.

**Tabela 32-** Resumo dos resultados hematológicos do paciente 1 (Plaq – plaquetas; Leuco – leucograma; CA – contagem automática; VA – valores ajustados com base na contagem diferencial de leucócitos; ocas - ocasional)

	Parâmetro	Dia 1	Dia 11	Dia 24	Dia 45	Intervalo de referência <sup>a, b</sup>
Eritrograma	Eritrócitosx10 <sup>6</sup> /µL	7,58	4,55	6,11	9,35	5,0-10,0
	Hemoglobina (g/dL)	11,2	7,1	10	15,7	8,0-15,0
	Hematócrito (%)	37,8	20,8	30,7	53,6	24,0-46,0
	VCM (fL)	49,9	45,9	50,3	57,4	39,0-52,0
	CHM (pg)	14,7	15,6	16,3	16,7	13,0-21,0
	CHCM (g/dL)	29,6	34,1	32,5	29,2	30,0-38,0
	RDW (%)	17,6	17,7	17,9	18,5	14,0-18,0
Plaq	Plaquetas /µL	67.000	296.000	708.000	319.000	300.000-800.000
	VPM (fL)	7,4	8,8	9,5	9,6	12-17
	Macroplaquetas (%)	20,00%	0,00%	0,74%	34,74%	-
Leuco CA	Leucócitos /µL	9.100	29.700	16.000	8.200	5.500-19.500
	Granulócitos /µL	5.800	12.500	11.500	5.300	2.500-14.300
	Linfócitos /µL	3.000	15.600	3.900	2.500	1.500-7.000
	Monócitos /µL	300	1.600	600	400	0-850
Leuco VA	Neutrófilos maduros /µL	5.506	20.048	10.880	5.207	2.500-12.500
	Neutrófilos em banda /µL	1.411	2.822	320	164	0-300
	Eosinófilos /µL	410	891	320	533	0-1.500
	Linfócitos /µL	1.547	5.643	4.320	2.214	1.500-7.000
	Monócitos /µL	228	297	160	82	0-850
Alterações na morfologia dos eritrócitos	<i>Rouleaux</i>	moderado	Ligeiro	ligeiro	ligeiro	
	Policromasia	-	3+	2+	-	
	Macrocitose	-	4+	1+	2+	
	Hipocromasia	ocas.	2+	1+	-	
	Acantócitos	4+	4+	3+	3+	
	Queratócitos	2+	2+	3+	2+	
	Esferócitos	ocas.	-	-	-	
	Esquizócitos	2+	3+	3+	ocas.	
	Eliptócitos	-	-	-	2+	
	Dacriócitos	ocas.	2+	2+	ocas.	
	Outros poiquilócitos	ocas.	1+	ocas.	-	
Células vermelhas nucleadas	-	2+	-	-		

<sup>a</sup> [68 referido por 6]

<sup>b</sup> [70 referido por 6]

**Tabela 33-** Resultados das bioquímicas séricas do paciente 1

Parâmetro	Dia 1	Dia 24	Dia 45	Intervalo de referência
Albumina (g/dL)	3,2	-	-	2,3-3,5
Proteínas totais (g/dL)	6,7	-	-	5,7-7,8
Ureia (mg/dL)	19,5	-	-	17,6-32,8
Creatinina (mg/dL)	0,6	-	-	0,8-1,8
ALT (U/L)	75	-	-	22-84
FA (U/L)	940	281	175	23-118
Bilirrubina total (mg/dL)	1,9	-	-	0,1-0,4
Glucose (mg/dL)	187	-	-	71-148

#### 4.1.4 Discussão

Tendo em conta a anamnese, sinais clínicos, dados laboratoriais, resposta à terapêutica e dados epidemiológicos, o paciente foi diagnosticado com micoplasmose hemotrófica felina, possivelmente associada ao FeLV.

Os principais diagnósticos diferenciais incluem infeções por outros agentes (FIV, FeLV) e neoplasia (leucemia, linfoma). As infeções por *Babesia felis*, *Anaplasma phagocitophilum* e

*Cytauxzoon felis* não foram consideradas por serem pouco representativas ou não endêmicas em Portugal.

Este gato teve sempre livre acesso ao exterior e esteve desaparecido entre um e dois meses, pelo que a probabilidade de ter contraído uma doença infecciosa é elevada. Além disso, não fazia quimioprofilaxia contra ectoparasitas e endoparasitas regularmente pelo que estaria suscetível a desenvolver doenças transmitidas por vetores, entre as quais a micoplasmose hemotrófica.

A micoplasmose hemotrófica felina tem sido constantemente associada ao sexo masculino e itinerância no exterior, não sendo evidente qualquer predisposição racial [40]. Num estudo realizado nos Estados Unidos da América, quase 90% dos gatos infetados com *M. haemofelis* eram machos [76]. Os adultos jovens e com historial de abcessos devidos a mordeduras por outros gatos também parecem ter maior tendência em desenvolver esta infeção [39].

O principal agente causador de micoplasmose hemotrófica felina é o *Mycoplasma haemofelis*, embora *Mycoplasma haemominutum* e *Mycoplasma turicensis* também possam causar doença em gatos imunodeprimidos ou com alguma patologia concomitante [38, 39].

Ao contrário das infeções por *M. haemofelis*, a maioria dos gatos infetados com *M. haemominutum* não desenvolve anemia ou outros sinais clínicos. A infeção de gatos com *M. haemominutum* pode ser inicialmente seguida por uma leve diminuição no hematócrito mas, este geralmente normaliza quatro a seis semanas depois [40].

Embora *M. haemofelis* possa ser causa de doença primária em gatos, nas infeções crónicas, à semelhança de *M. haemominutum* e *M. turicensis*, pode agir como agente oportunista, causando doença após atuação de um agente stressor [39].

Os hemoplasmas têm sido descritos como agentes patogénicos secundários em associação com retrovírus, nomeadamente FIV e FeLV, ou outras doenças debilitantes [38].

Gatos coinfetados com *M. haemominutum* e FeLV, tipicamente desenvolvem anemia mais significativa do que gatos infetados apenas com o hemoplasma. Além disso, têm maior probabilidade de desenvolver doença mieloproliferativa do que gatos infetados unicamente com FeLV [39]. O aumento da predisposição para a doença mieloproliferativa em infeções concomitantes com FeLV e hemoplasmas pode estar associada a imunossupressão induzida pelo hemoplasma, hiperplasia eritroide e estimulação imunitária, levando a um aumento na taxa de mutação e consequente doença mieloproliferativa [40].

Alguns estudos mas, não todos, mostraram uma associação entre as infeções por retrovírus e a hemoplasmose [40]. Segundo Harvey (2000), 40% a 50% dos gatos com micoplasmose hemotrófica clínica são FeLV positivos [77].

O FeLV e o FIV podem deprimir o sistema imunitário, aumentando a suscetibilidade dos gatos para contrair a infeção. Do mesmo modo, os retrovírus podem contribuir para a conversão de uma infeção latente numa infeção ativa [39].

Estes dados corroboram a suspeita deste paciente estar infetado com FeLV. Essa opinião fundamenta-se essencialmente nos achados hematológicos aquando da análise dos esfregaços sanguíneos, mais concretamente na presença de múltiplas células vermelhas nucleadas, as quais incluíram metarubricitos, rubricitos, prorubricitos e eritroblastos. O paciente pode ter tido uma infeção crónica por um hemoplasma (mais provavelmente *M. haemominutum*, daí nunca ter manifestado sinais clínicos anteriormente a este episódio e da anemia ser leve) e ter-se infetado posteriormente com FeLV, o que despoltou a doença; ou pode ter-se infetado primeiro com FeLV e depois pelo hemoplasma.

O paciente na altura da primeira avaliação não estava anémico porém, 10 dias depois e ainda não medicado com doxiciclina (o antibiótico inicialmente prescrito foi a enrofloxacina) desenvolveu anemia leve. O desenvolvimento da anemia pode ser devido a vários fatores, nomeadamente: ao aumento da parasitemia verificado na fase aguda da doença; à medicação com doses imunossupressoras de prednisolona, incapacitando o sistema imunitário de controlar a infeção; à ineficácia do antibiótico (enrofloxacina); ou ao conjunto deste fatores.

Este paciente sofreu melhorias significativas após introdução da doxiciclina o que contesta o facto da enrofloxacina ser efetiva na eliminação de infeções por hemoplasmas [38].

Este caso clínico denota a importância de incluir os dados obtidos do exame do esfregaço sanguíneo, principalmente grau de policromasia e macrocitose, na classificação das anemias em regenerativas e não regenerativas, uma vez que aquilo que parecia ser uma anemia não regenerativa (normocrómica, normocítica), era com efeito regenerativa, dada a presença de policromasia (3+), macrocitose (4+), hipocromasia (2+) e anisocitose.

É de salientar que pode não ser verificada uma resposta regenerativa se o tempo decorrido for insuficiente para iniciar a resposta ao estímulo anóxico, ou se houver uma infeção concorrente com FeLV [40].

As anemias devidas ao FeLV são tipicamente macrocíticas e normocrómicas.

Tendo em conta que a maioria dos gatos infetados com hemoplasmas permanecem portadores crónicos do parasita, podendo haver recidivas da doença em situações de stress, e que a macrocitose e policitemia, bem como as restantes alterações anteriormente referidas, podem ser indicativas de infeção pelo FeLV, é recomendado averiguar o *status* FIV e FeLV do paciente [38, 39]. E, caso seja positivo para algum destes retrovírus, fazer monitorizações periódicas dos parâmetros hematológicos, principalmente se for FeLV positivo dada a possibilidade de desenvolver neoplasia eritróide.

## 4.2 Paciente 11

### 4.2.1 Apresentação do caso

Um cão de raça indefinida, macho inteiro, com quatro anos de idade, foi apresentado no Hospital Veterinário de Loulé (Loulé, Portugal) com história de fraqueza e anorexia com duração de duas semanas, e dois dias, respetivamente. O cão vivia no exterior e havia sido vacinado no ano anterior para *Leptospira* spp., vírus da esgana canina, adenovírus canino, parvovírus canino, vírus da parainfluenza canina e vírus da raiva. Não fazia proilaxia nem controlo de ectoparasitas e endoparasitas, tendo-lhe sido detetadas carraças fixadas recentemente.

No exame físico apresentou pulso, frequência respiratória, tempo de retração da prega cutânea, tempo de repleção capilar e cor das membranas mucosas dentro dos limites normais. Apresentava-se com hipertermia (temperatura retal de 40,5 °C) e condição corporal pontuada em quatro numa escala de nove valores (4/9).

As alterações identificadas no hemograma foram, anemia ligeira, normocrômica, normocítica (hematócrito 34,2%, intervalo de referência 37-55%; CHCM 31,5 g/dL, intervalo de referência 30-38 g/dL; VCM 69,2 fL, intervalo de referência 62,0-72,0 fL), trombocitopenia grave (12.000 / $\mu$ L, intervalo de referência 200.000-500.000), aumento do número absoluto de neutrófilos em banda (528 / $\mu$ L, intervalo de referência 0-300 / $\mu$ L) sem neutrofilia, e eosinopenia (44 / $\mu$ L, intervalo de referência 100-1,250). No exame do esfregaço sanguíneo identificaram-se eliptócitos (ocasional), dacriócitos (ocasional), entre outros poiquilócitos (1+); a trombocitopenia foi confirmada por contagem manual e foi estimada a percentagem de macroplaquetas em 100%; 16,67% dos linfócitos contabilizados na contagem diferencial de leucócitos apresentavam sinais de reatividade compatíveis com a categoria morfológica tipo II de Downey, descrita por Downey e McKinlay [12 referido por 1].

Os resultados das bioquímicas séricas incluíram aumento da creatinina (1,9 mg/dL, intervalo de referência 0,4-1,4 mg/dL), aumento ligeiro do enzima FA (330 U/L, intervalo de referência 13-83 U/L) e aumento ligeiro do enzima gama glutamil transferase (GGT) (31 mg/dL, intervalo de referência 5-14 mg/dL).

Dado o diagnóstico presuntivo de doença riquetsial e a presença de pirexia, o paciente foi medicado com enrofloxacina (5 mg/Kg, por via subcutânea) e meloxicam (0,2 mg/Kg, por via subcutânea). O paciente regressou a casa com a seguinte prescrição: doxiciclina, 5 mg/Kg, administrados por via oral, cada 12 horas, durante 28 dias, a iniciar no dia dois (2); e prednisolona, 2 mg/Kg, administrados por via oral, duas vezes por dia, durante três dias, a iniciar no dia três (3), passando depois para 1 mg/Kg, administrado por via oral, uma vez por dia até novas recomendações.

Onze dias após a apresentação inicial (dia 12), o paciente estava bastante ativo e com apetite. O exame físico não detetou alterações.

Os resultados do hemograma mostram que o paciente já não estava anêmico (hematócrito 37,4%, intervalo de referência 37-55%) e que a concentração plaquetária estava agora bastante próxima do limite inferior do intervalo de referência (187.000 / $\mu$ L, intervalo de referência 200.000-500.000). No leucograma ainda estava patente um desvio à esquerda (617 / $\mu$ L, intervalo de referência 0-300 / $\mu$ L) sem neutrofilia. As alterações morfológicas identificadas aquando do exame do esfregaço sanguíneo incluíram policromasia (1+), macrocitose (1+), acantócitos (ocasional), esquizócitos (ocasional), eliptócitos (ocasional) e outros poiquilócitos (1+); não foram encontrados linfócitos reativos nem macroplaquetas.

Adicionalmente, foi determinada a concentração sérica do enzima FA, a qual estava bastante aumentada (1471 U/L, intervalo de referência 13-83 U/L), e da creatinina, que estava dentro do intervalo de referência.

Nesse dia a prednisolona foi descontinuada, tendo a doxiciclina prosseguido conforme o previamente estipulado, até perfazer 28 dias de antibioterapia.

#### **4.2.2 Interpretação hematológica**

Os resultados do hemograma e exame do esfregaço sanguíneo figuram na tabela 34.

A trombocitopenia grave identificada no primeiro dia é indicativa de destruição imunomediada das plaquetas, muito provavelmente consequente a um processo infeccioso. A anemia, naquele dia, era decididamente não regenerativa (normocrômica, normocítica), não tendo sido identificados policromatófilos, nem outros sinais de regeneração aquando do exame do esfregaço sanguíneo. A presença massiva de macroplaquetas prova a funcionalidade da medula óssea e que esta está a tentar colmatar o défice de plaquetas [14].

O aumento ligeiro no número absoluto de neutrófilos em banda (inferior a 1.000 / $\mu$ L) sem neutrofilia e a eosinopenia podem ser tanto devidos à presença de um processo inflamatório agudo ou como parte de uma resposta aos glucocorticoides endógenos, uma vez que a libertação de cortisol aumenta em situações de stress [5, 75]. Normalmente, um desvio à esquerda é acompanhado de neutrofilia o que não se verifica neste caso. A ausência de neutrofilia concomitante pode ser proporcionada por um estado de equilíbrio em que a destruição de neutrófilos é compensada pela libertação dos mesmos pela medula óssea. Como a taxa de produção e libertação de neutrófilos está aumentada nestas situações, a presença de neutrófilos imaturos no sangue periférico estará também tendencialmente aumentada. Alguns estudos, referidos na discussão do capítulo 3- avaliação de esfregaços sanguíneos, referem o desenvolvimento de neutropenia em animais infetados com *Ehrlichia canis* e *Anaplasma phagocytophilum*.

As alterações na morfologia dos eritrócitos identificadas aquando do exame do esfregaço sanguíneo, mais concretamente acantócitos, esquizócitos, eliptócitos e dacriócitos, são compatíveis com glomerulonefrite [2, 4, 7].

A presença de linfócitos reativos num valor percentual estimado em cerca de 16,67% é bastante sugestiva de um processo inflamatório em curso com estimulação antigénica [1,5].

A resolução da anemia e principalmente o aumento da concentração plaquetária, onze dias depois, evidenciam a boa evolução do paciente. O aumento do número de plaquetas geralmente é indicativo de boa resposta à terapêutica. Após início da antibioterapia, o número de plaquetas começa a aumentar 24 a 48 horas depois, atingindo valores normais geralmente em 14 dias [19, 22].

No esfregaço sanguíneo foi manifesta a resposta regenerativa (policromasia e macrocitose) essencial na resolução da anemia anteriormente identificada. A ausência de linfócitos reativos é devida tanto à eliminação do estímulo antigénico conferida pela antibioterapia como à imunossupressão conferida pela prednisolona.

O desvio à esquerda ainda estava patente e tinha sofrido um ligeiro aumento, que poderá ser devido à administração de prednisolona, embora tendencialmente os números absolutos de eosinófilos e linfócitos diminuíssem e não aumentassem como se verificou.

**Tabela 34-** Resumo dos resultados hematológicos do paciente 11 (Plaq – plaquetas; Leuco – leucograma; CA – contagem automática; VA – valores ajustados com base na contagem diferencial de leucócitos; ocas - ocasional)

	Parâmetro	Dia 1	Dia 12	Intervalo de referência <sup>a, b</sup>
Eritrograma	Eritrócitosx10 <sup>6</sup> /μL	4,95	5,21	5,5-8,5
	Hemoglobina (g/dL)	10,8	12,2	12,0-18,0
	Hematócrito (%)	34,2	37,4	37-55
	VCM (fL)	69,2	71,9	62,0-72,0
	CHM (pg)	21,8	23,4	20,0-25,0
	CHCM (g/dL)	31,5	32,6	30,0-38,0
	RDW (%)	14,2	16,2	11,0-15,5
Plaq	Plaquetas /μL	12.000	187.000	200.000-500.000
	VPM (fL)	7,3	9,4	6,7-11,1
	Macroplaquetas (%)	100,00%	0,00%	-
Leuco CA	Leucócitos /μL	8.800	13.700	6.000-17.000
	Granulócitos /μL	7.600	10.000	3.100-13.050
	Linfócitos /μL	1.000	3.400	1.000-4.800
	Monócitos /μL	200	300	150-1.350
Leuco VA	Neutrófilos maduros /μL	6.864	8.768	3.000-11.500
	Neutrófilos em banda /μL	528	617	0-300
	Eosinófilos /μL	44	959	100-1.250
	Linfócitos /μL	1.056	2.124	1.000-4.800
	Monócitos /μL	308	1.233	150-1.350
Alterações na morfologia dos eritrócitos	Policromasia	-	1+	-
	Macrocitose	-	1+	
	Acantócitos	-	ocas.	
	Esquizócitos	-	ocas.	
	Eliptócitos	ocas.	ocas.	
	Dacriócitos	ocas.	-	
	Outros poiquilócitos	1+	1+	

<sup>a</sup> [68 referido por 3]

<sup>b</sup> [71 referido por 3]

#### 4.2.3 Interpretação de resultados adicionais

Os dados relativos às bioquímicas séricas constam na tabela 35.

O aumento da concentração sérica de creatinina, verificado no primeiro dia, é compatível com glomerulonefrite (por deposição de complexos anticorpo-antigénio). Nesse dia, estava igualmente presente um aumento ligeiro do enzima FA, o qual é característico das infeções por organismos riquetsiais [21, 23]. O aumento ligeiro da GGT pode resultar dos mesmos mecanismos envolvidos no aumento da FA, embora no cão seja mais específico de afeção nas vias biliares.

No dia 12, a creatinina estava dentro do intervalo de referência o que indica resolução da glomerulonefrite. Porém, foi notado um aumento marcado na FA, possivelmente devido à terapêutica com doxiciclina.

Até 40% dos cães tratados com doxiciclina exibem aumento nos enzimas ALT e FA mas, o significado clínico desse aumento permanece por determinar [78].

**Tabela 35-** Resultados das bioquímicas séricas do paciente 11

Parâmetro	Dia 1	Dia 12	Intervalo de referência
Ureia (mg/dL)	16,6	-	9,2-29,2
Creatinina (mg/dL)	1,9	0,9	0,4-1,4
FA (U/L)	330	1471	13-83
GGT (U/L)	31	-	5-14

#### 4.2.4 Discussão

Tendo em conta a anamnese, sinais clínicos, dados laboratoriais, resposta à terapêutica e dados epidemiológicos, o paciente foi diagnosticado com doença riquetsial. Doença riquetsial é o termo genérico aplicado à doença provocada pela infeção por qualquer organismo pertencente à ordem Rickettsiales [22].

Os principais diagnósticos diferenciais incluem as várias apresentações da doença riquetsial provocadas por agentes etiológicos específicos, designadamente erlichiose monocítica (*Ehrlichia canis*), anaplasmoze granulocítica (*Anaplasma phagocytophilum*) e trombocitopenia cíclica infecciosa (*Anaplasma platys*), babesiose e hepatozoonose. Destes, os diagnósticos mais prováveis são a erlichiose monocítica e a anaplasmoze granulocítica por estarem mais frequentemente associados aos sinais clínicos exibidos. A infeção por *Anaplasma platys*, apesar de provocar trombocitopenia, raramente resulta em doença clínica, sendo a sintomatologia frequentemente leve ou inaparente [22]. Independentemente da espécie riquetsial envolvida, a abordagem terapêutica é a mesma, pelo que essa distinção não é essencial na prática clínica. Embora no norte de Portugal os casos de babesiose sejam bastante comuns, no sul o número de casos é muito menos expressivo, razão pela qual a babesiose não consta no topo da lista de diagnósticos diferenciais. A infeção por *Hepatozoon canis* (a espécie endémica na Europa) geralmente não causa sintomatologia clínica, pelo que a hepatozoonose também não é o diagnóstico mais plausível para este paciente.

A resposta exacerbada do sistema imunitário está provavelmente envolvida na patogénese e sinais clínicos da erlichiose monocítica e anaplasmoses granulocítica. Mais concretamente, cães infetados demonstram defeito na função plaquetária, autoaglutinação eritrocitária, produção de anticorpos anti-nucleares e anti-plaquetas e, extensa infiltração de células plasmáticas nos linfonodos, órgãos parenquimatosos e medula óssea. A formação de imunocomplexos está também descrita e provavelmente contribui para algumas manifestações clínicas [21].

Estes dados estão em conformidade com o quadro clínico apresentado pelo paciente, nomeadamente trombocitopenia imunomediada (geralmente as trombocitopenias graves são essencialmente devidas à destruição imunomediada) e glomerulonefrite, a qual resulta da deposição de imunocomplexos nos glomérulos renais.

As anemias na doença riquetsial são tipicamente ligeiras e não regenerativas (normocrómicas, normocíticas), tal como identificado neste paciente [21, 22, 23, 24]. Contudo, aquando da reavaliação do paciente, 11 dias depois, o esfregaço sanguíneo exibiu policromatófilos e macrocitose os quais são sugestivos de resposta regenerativa.

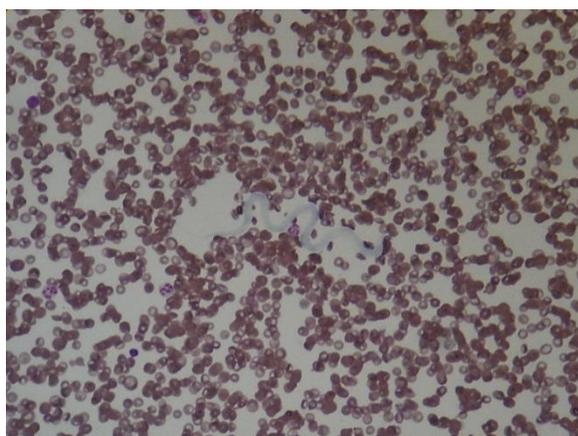
O paciente não compareceu na consulta de reavaliação, como acordado, uma semana após completar o tratamento com a doxiciclina.

Para além de ser recomendado verificar a concentração plaquetária no mínimo quatro a oito semanas após término da antibioterapia, para efeitos de avaliação da eliminação da infeção, seria importante monitorizar a concentração sérica dos enzimas hepáticos de forma avaliar potenciais complicações secundárias à administração da doxiciclina como colecistite e colangiohepatite sugeridas pelo aumento marcado da FA.

### **4.3 Paciente 16**

#### **4.3.1 Apresentação do caso**

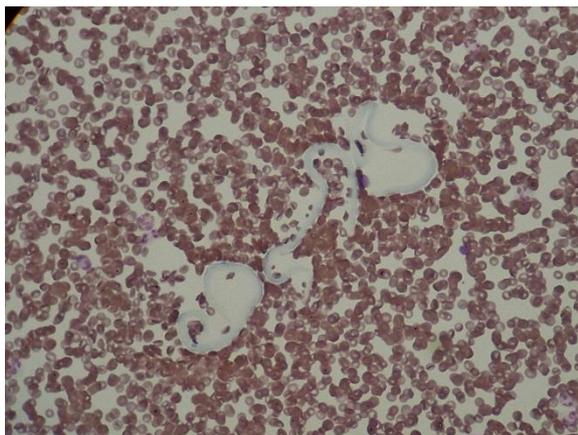
Um cão de raça indeterminada, macho castrado, com dois anos de idade, foi apresentado no Hospital Veterinário de Loulé (Loulé, Portugal) com história de prostração e um episódio de vómito notados na manhã desse dia. O cão tinha sido adotado há duas semanas atrás no canil municipal de Setúbal. Estava vacinado para o vírus da raiva mas, desconhecia-se os hábitos de profilaxia contra endoparasitas e ectoparasitas praticados pelo canil. Era alimentado exclusivamente com alimento composto completo seco.



**Figura 34-** Esfregaço de sangue periférico de canídeo. Presença de microfilaria. (Hemacolor® X100).

No exame físico apresentou temperatura, pulso, frequência respiratória, tempo de retração da prega cutânea, tempo de repleção capilar e cor das membranas mucosas dentro dos limites normais; condição corporal avaliada em quatro numa escala de nove valores (4/9).

As alterações identificadas no hemograma foram anemia ligeira não regenerativa, normocrômica, normocítica (hematócrito 36%, intervalo de referência 37-55%; CHCM 30,2 g/dL, intervalo de referência 30,0-38,0 g/dL; VCM 72,0 fL, intervalo de referência 62,0-72,0 fL), anisocitose (RDW 16,2%, intervalo de referência 11,0-15,0%) e aumento do número absoluto de neutrófilos em banda (708 / $\mu$ L, intervalo de referência 0-300 / $\mu$ L) sem neutrofilia. O exame do esfregaço sanguíneo identificou *rouleaux* ligeiro, macrocitose (ocasional), leptócitos (ocasional), outros poiquilócitos (1+) e microfilárias (figuras 34 e 35).



**Figura 35-** Esfregaço de sangue periférico de canídeo. Presença de microfilárias. (Hemacolor® X100).

O exame de gota fresca evidenciou microfilaremia significativa.

O paciente regressou a casa nesse dia com a prescrição de famotidina (0,35 mg/Kg, administrados por via oral, duas vezes por dia, durante cinco dias) e iniciou o tratamento da dirofilariose de acordo com o protocolo recomendado pela *American Heartworm Society* (tabela 19).

#### 4.3.2 Interpretação hematológica

Os resultados do hemograma e exame do esfregaço sanguíneo figuram na tabela 36.

Embora a anemia no momento da avaliação seja não regenerativa, existem indícios que apontam para que possa estar a evoluir para regenerativa, nomeadamente anisocitose, macrocitose (ocasional) e tanto o VCM como o CHCM estão próximos do limite superior e inferior dos intervalos de referência, respetivamente. Além disso, a formação de leptócitos resulta de um aumento do rácio área de superfície/ volume que pode ser observada em eritrócitos mais jovens, como os policromatófilos [2].

O aumento do número absoluto de neutrófilos em banda pode advir quer de uma resposta a um estímulo inflamatório quer de uma resposta à libertação de glucocorticoides endógenos.

Analisando o leucograma com maior detalhe, pode-se constatar que o número absoluto de eosinófilos está próximo do limite superior do intervalo de referência. Embora não se verifique uma eosinofilia absoluta, na contagem diferencial de leucócitos estava patente uma

eosinofilia relativa de 9,50% (tabela 22). As causas de eosinofilia podem ser agrupadas genericamente em causas imunomediadas, causas infecciosas e causas neoplásicas. Dentro das causas infecciosas o parasitismo assume particular destaque. Os parasitas que realizam migrações induzem mais provavelmente eosinofilia, uma vez que o tempo de contacto do parasita com os tecidos do hospedeiro é prolongado. Está descrita a indução de eosinofilia pelos estádios migrantes de *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum* e *Dirofilaria immitis*. Geralmente, as infeções crónicas por endoparasitas não provocam eosinofilia. Embora não se trate de uma eosinofilia absoluta, um valor desta ordem, associado à eosinofilia relativa, não deve ser ignorado e devem-se averiguar potenciais causas de eosinofilia. Além disso, os glucocorticoides têm um forte efeito no número de eosinófilos no sangue e nos tecidos, e o seu papel deve ser considerado na interpretação do número de eosinófilos. O stress e a inerente libertação de cortisol causam frequentemente eosinopenia [75]. Este paciente tinha sido recentemente retirado do canil e introduzido num ambiente que lhe era estranho, pelo que estaria naturalmente num estado de ansiedade, para a qual contribuiria ainda a vinda ao veterinário. Assim, o número de eosinófilos pode ter descido e aquilo que seria uma eosinofilia em condições normais, pode ter-se tornado numa concentração de eosinófilos normal.

A presença de *rouleaux* ligeiro pode estar relacionada com aumento da concentração sérica de proteínas inflamatórias (principalmente imunoglobulinas e fibrinogénio) [2, 4, 5].

**Tabela 36-** Resumo dos resultados hematológicos do paciente 16 (Plaq – plaquetas; Leuco – leucograma; CA – contagem automática; VA – valores ajustados com base na contagem diferencial de leucócitos; ocas - ocasional)

	Parâmetro	Dia 1	Intervalo de referência <sup>a, b</sup>
Eritrograma	Eritrócitos x 10 <sup>6</sup> /μL	5,0	5,5-8,5
	Hemoglobina (g/dL)	10,9	12,0-18,0
	Hematócrito (%)	36	37-55
	VCM (fL)	72,0	62,0-72,0
	CHM (pg)	21,8	20,0-25,0
	CHCM (g/dL)	30,2	30,0-38,0
	RDW (%)	16,2	11,0-15,5
Plaq	Plaquetas /μL	221.000	200.000-500.000
	VPM (fL)	9,8	6,7-11,1
	Macroplaquetas (%)	0	-
Leuco CA	Leucócitos /μL	11.800	6.000-17.000
	Granulócitos /μL	9.100	3.100-13.050
	Linfócitos /μL	2.300	1.000-4.800
	Monócitos /μL	400	150-1.350
Leuco VA	Neutrófilos maduros /μL	7.729	3.000-11.500
	Neutrófilos em banda /μL	708	0-300
	Eosinófilos /μL	1.121	100-1.250
	Linfócitos /μL	1.298	1.000-4.800
	Monócitos /μL	944	150-1.350
Eritrócitos	<i>Rouleaux</i>	ligeiro	-
	Macrocitose	ocas.	
	Leptócitos	ocas.	
	Outros poiquilócitos	1+	

<sup>a</sup> [68 referido por 3]

<sup>b</sup> [71 referido por 3]

### 4.3.3 Discussão

A maioria dos cães infetados com *Dirofilaria immitis* não mostra sinais clínicos. Os sinais clínicos estão associados com a doença crónica e dependem da carga parasitária, duração da infeção, doenças concomitantes mas, principalmente do nível de atividade do cão; tipicamente refletem os efeitos dos parasitas nas artérias pulmonares, pulmões e, secundariamente, no coração.

No caso deste paciente em particular, o facto de ter sido um animal de canil e portanto, tendo estado confinado e com actividade física limitada, pode ter retardado a evolução da doença. Os sinais clínicos eram leves, o que é um sinal de bom prognóstico, e consistiram em prostração e vômito, que poderão estar relacionados com a dirofilariose, embora a sintomatologia gastrointestinal seja mais frequentemente descrita no gato [65].

Este caso demonstra a importância da realização do exame de gota fresca no rastreio da dirofilariose. É um teste simples, rápido e sem custos adicionais, devendo ser executado em conjunto com o esfregaço sanguíneo. Além disso, atendendo a que a maioria dos cães com dirofilariose desenvolve microfíremia, poderá rentabilizar o processo de diagnóstico diminuindo os custos acrescidos pela serologia. É de salientar que um exame de gota fresca negativo não descarta a infeção.

Nas áreas endémicas, aproximadamente 20% dos cães infetados não manifestam microfíremia e este número é ainda maior em cães que cumprem um programa profilático com lactonas macrocíclicas, razão pela qual, caso não sejam detetadas microfírias circulantes, deve-se realizar o teste de antigénio para descartar potenciais infeções “ocultas” [63].

É importante fazer uma breve avaliação da morfologia das microfírias de forma a diferenciar a *D. immitis* das espécies de filárias não patogénicas tais como *Acanthocheilonema reconditum*. Esta análise pode ser feita nas microfírias que eventualmente possam estar presentes no esfregaço sanguíneo ou numa preparação de sangue fresco coberto com lamela. Esta última permite observar o padrão de motilidade das microfírias que pode ser usado como fator adicional na distinção de *D. immitis* de *A. reconditum* (as microfírias de *D. immitis* mexem-se no mesmo campo enquanto as microfírias de *A. reconditum* mudam de campo) [64]. As microfírias presentes nas figuras 34 e 35 exibem as características morfológicas de *D. immitis*, nomeadamente, cabeça cónica e cauda reta, em oposição à cabeça romba e cauda curva da *A. reconditum*; o padrão de motilidade esteve igualmente de acordo com o descrito para a *D. immitis* [63].

A atividade do cão é o fator mais significativo nas complicações pós-terapêutica adulticida. Além de ser necessário seguir rigorosamente o protocolo quimioterápico é imprescindível limitar a atividade física e evitar a excitação e sobreaquecimento do paciente para que o tratamento seja bem-sucedido [63].

## CONCLUSÕES GERAIS

O exame do esfregaço sanguíneo é muitas vezes desvalorizado na prática clínica. Contudo, a informação que este veicula é imensa, tendo aplicações diretas no diagnóstico, avaliação de potenciais complicações e evolução clínica, e prognóstico.

A análise microscópica do sangue deve englobar os seguintes parâmetros: contagem diferencial de leucócitos, identificação de leucócitos com morfologia anormal, avaliação da morfologia dos eritrócitos e contagem de plaquetas.

A contagem diferencial de leucócitos e o respetivo cálculo dos valores absolutos acrescenta informação ao leucograma obtido pelos equipamentos automáticos mais comuns, isto é, aqueles que se baseiam na impedância. Os equipamentos automáticos mais avançados, que se baseiam na citometria de fluxo, são mais exatos e precisos, e permitem obter um leucograma com a população de leucócitos discriminada. Na ausência de um leitor hematológico provido de citometria de fluxo, a contagem diferencial de leucócitos constitui um precioso auxílio no controlo de qualidade do desempenho do equipamento de hematologia automático, bem como é imprescindível para definir de forma detalhada a população de leucócitos.

A análise das características morfológicas dos leucócitos permite a identificação de eventuais alterações tóxicas nos neutrófilos, as quais refletem uma produção acelerada pela medula óssea, e a presença de linfócitos reativos, os quais resultam de estimulação antigénica.

A avaliação da morfologia dos eritrócitos e o conhecimento do que cada tipo de alteração representa fornece-nos vários indícios dos processos patológicos presentes.

A contagem de plaquetas assume especial importância nos gatos, uma vez que o seu sangue é naturalmente propenso à ativação plaquetária durante a colheita e manipulação do sangue, podendo ocorrer a formação de agregados plaquetários e coágulos. Além disso, as plaquetas felinas frequentemente têm um tamanho próximo dos eritrócitos, podendo algumas delas igualarem ou superarem o diâmetro dos eritrócitos (macroplaquetas), pelo que os aparelhos de hematologia baseados na impedância muitas vezes assumem essas plaquetas como eritrócitos, baixando artefactualmente a concentração plaquetária.

O diagnóstico de hemoparasitose geralmente inicia-se com a avaliação clínica de um paciente febril, miálgico, com as mucosas pálidas, ou exibindo sintomatologia cardiorespiratória (no caso da dirofilariose). A história de exposição a carraças, pulgas ou mosquitos, e um hemograma revelando trombocitopenia e outras alterações características, aumentam ainda mais as suspeitas. Os animais com infeções concomitantes têm quadros clínicos mais graves e alterações hematológicas mais pronunciadas. A confirmação laboratorial pode ser alcançada por serologia ou PCR, embora outros métodos, tais como exame do esfregaço sanguíneo para deteção de mórulas, hemoplasmas, protozoários e, eventualmente, microfíliarias, possa ser útil nas infeções agudas por alguns agentes. Para maximizar a probabilidade de alcançar um diagnóstico, tanto os ensaios serológicos como o PCR devem ser realizados juntos, com o

exame atento e minucioso dos esfregaços sanguíneos em qualquer paciente suspeito de hemoparasitose.

Na indisponibilidade de recorrer aos testes serológicos ou ao PCR, embora não seja a opção ideal, pode-se proceder ao diagnóstico terapêutico (à exceção da dirofilariose), o qual, se correto, terá uma resposta positiva nas primeiras 48 horas subsequentes ao início da terapia. Se após uma semana o paciente não estiver a recuperar, então deve-se poderar a substituição do agente terapêutico e se possível fazer a requisição de serologia ou PCR.

É de salientar que a doença clínica pode desenvolver-se antes da seroconversão. Assim, um teste de anticorpo negativo não deve ser usado para eliminar um diagnóstico de hemoparasitose.

Mesmo o PCR, o qual é bastante sensível e específico, não é infalível, podendo ocorrer amplificações cruzadas.

A identificação do agente etiológico nos esfregaços sanguíneos permite a confirmação direta e imediata do diagnóstico.

O esfregaço sanguíneo não é um meio de diagnóstico sensível para qualquer hemoparasita, pelo que um diagnóstico de hemoparasitose não deve ser excluído mesmo quando não são detetados os parasitas. Além disso, deve-se estar atento para a observação de outros indícios de infeção no esfregaço sanguíneo, que embora não sejam tão diretos como a deteção do agente etiológico, fornecem muita informação e dão pistas valiosas para a constituição do diagnóstico.

Embora não tenham sido identificados hemoparasitas nos esfregaços sanguíneos, à exceção de microfilárias, foram encontradas várias alterações sugestivas de processos inflamatórios infecciosos que incluíram diversas alterações na morfologia dos eritrócitos e linfócitos reativos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Kroft, S. H. (2002). Infectious diseases manifested in the peripheral blood. *Clinics in Laboratory Medicine*, 22, 253-277.
2. Harvey, J. W. (2001). Erythrocytes. In: Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. Saunders. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 21-33, 36-39.
3. Rizzi, T. E.; Meinkoth, J. H.; Clinkenbeard, K. D. (2010). Normal Hematology of the Dog. In: Schalm's Veterinary Hematology. 6ª Edição. Ed. Weiss, D. J.; Wardrop, K. J. Wiley-Blackwell. Ames, Iowa. pp. 799-809.
4. Allison, R. W.; Meinkoth, J. M. (2007). Hematology without the numbers: in-clinic blood film evaluation. *Vet Clin Small Anim*, 37, 245-266.
5. Stockham, S. L.; Keeton, K. S.; Szladovits, B. (2003). Clinical assessment of leukocytosis: distinguishing leukocytoses caused by inflammatory, glucocorticoid, physiologic, and leukemic disorders or conditions. *Vet Clin Small Anim*, 33, 1335–1357.
6. Rizzi, T. E.; Meinkoth, J. H.; Clinkenbeard, K. D. (2010). Normal Hematology of the Cat. In: Schalm's Veterinary Hematology. 6ª Edição. Ed. Weiss, D. J.; Wardrop, K. J. Wiley-Blackwell. Ames, Iowa. pp. 811-819.
7. Tvedten, H.; Weiss, D. J. (2000). Classification and laboratory evaluation of anemia. In: Schalm's veterinary hematology. 5ª Edição. Ed. Feldman, E. C.; Zinkl, J. G.; Jain, N. C. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 143–150.
8. Lee, K. W.; Yamato, O.; Tajima, M. (2000). Hematologic changes associated with the appearance of eccentrocytes after intragastric administration of garlic extract to dogs. *Am J Vet Res*, 61, 1446–1450.
9. Stockham, S. L.; Scott, M. A. (2002). Leukocytes. In: Fundamentals of veterinary clinical pathology. Iowa State Press. Ames, Iowa. pp. 49–83.
10. Harvey, J. W. (2001). Leukocytes. In: Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. Saunders. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 45-51, 55-69.
11. Schnelle, A. N.; Barger, A. M. (2012). Neutropenia in Dogs and Cats: Causes and Consequences. *Vet Clin Small Anim*, 42, 111–122.
12. Downey, H.; McKinlay, C. A. (1923). Acute lymphadenosis compared with acute lymphatic leukemia. *Arch Intern Med*, 32, 82–112.
13. Harvey, J. W. (2001). Platelets. In: Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. Saunders. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 75-77.
14. Russell, K. E.; Grindem, C. B. (2000). Secondary thrombocytopenia. In: Schalm's veterinary hematology. 5ª Edição. Ed. Feldman, E. C.; Zinkl, J. G.; Jain, N. C. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 487–495.
15. Brown, S. J.; Simpson, K. W.; Baker, S. (1994). Macrothrombocytosis in Cavalier King Charles spaniels. *Vet Rec*, 135, 281-283.

16. Pedersen, H. D.; Haggstromm, J.; Olsen, L. H. (2002). Idiopathic asymptomatic thrombocytopenia in Cavalier King Charles spaniels is an autosomal recessive trait. *J Vet Intern Med*, 16, 169-173.
17. Dodds, W. J. (1967). Familial canine thrombocytopenia. *Thromb Diath Haemorrh*, 26, 241-247.
18. Davis, B.; Toivio-Kinnucan, M.; Schuller, S. (2008). Mutation in  $\beta$  1 – tubulin correlates with macrothrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniels. *J Vet Intern Med*, 22, 540-545.
19. Allison, R. W.; Little, S. E. (2013). Diagnosis of rickettsial diseases in dogs and cats. *Vet Clin Pathol*, 42, 127–144.
20. Rothrock, K. (2013b). *Neorickettsia*. VIN, Associate Database. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=5495>. (Acedido em 17/08/2014).
21. Rothrock, K. (2013). Ehrlichiosis, Monocytic. Vin, Associate Database. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=1175>. (Acedido em 17/08/2014).
22. Neer, T. M.; Breitschwerdt, E. B.; Greene, R. T.; Lappin, M. R. (2002). Consensus Statement on Ehrlichial Disease of Small Animals from the Infectious Disease Study Group of the ACVIM. *J Vet Intern Med*, 16, 309-315.
23. Shell, L. (2012). Infectious Cyclic Thrombocytopenia (*Anaplasma platys*). VIN, Associate Database. Ed. Rothrock, K. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=197>. (Acedido em 27/09/2014).
24. Rothrock, K. (2012). Feline Granulocytic Anaplasmosis. VIN, Associate Database. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=781>. (Acedido em 27/09/2014).
25. de la Fuente, J.; Torina, A.; Naranjo, V. (2006). Molecular characterization of *Anaplasma platys* strains from dogs in Sicily, Italy. *BMC Vet Res*, 2, 24.
26. Komnenou, A. A.; Mylonakis, M. E.; Kouti, V. (2007). Ocular manifestations of natural canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study of 90 cases. *Vet Ophthalmol*, 10, 137-142.
27. Troy, G. C.; Forrester, S. D. (1990). Canine ehrlichiosis. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. Ed. Greene, C. E. Saunders. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 404–418.
28. Gaunt, S. D.; Ramaswamy, C.; Beall, M. (2007). Potentiation of Thrombocytopenia and Anemia in Dogs Experimentally Co-infected with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*. ACVIM 2007.
29. Beall, M.; Gaunt, S. D.; Chandrashekar, R. (2008). Duration of Infection and Efficacy of Doxycycline Treatment in Dogs Experimentally Co-Infected with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*. ACVIM 2008.

30. Freire, M. N.; Azevedo, T. S.; Cunha, M. O. (2009). Canine Ehrlichiosis: Clinical, Hematological and Serological Investigation of 100 Dogs. World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings 2009.
31. Ramos, C. A. N.; Ramos, R. A. N.; Araujo, F. R. (2009). Comparison of nested-PCR with blood smear examination in detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in dogs. *Rev Bras Parasitol Vet*, 18, 58-62.
32. Hamel, D.; Bondarenko, A.; Silaghi, C.; Nolte, I.; Pfister, K. (2012). Seroprevalence and bacteremia (corrected) of *Anaplasma phagocytophilum* in cats from Bavaria and Lower Saxony (Germany). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 125, 163-167.
33. Unver, A.; Rikihisa, Y.; Kawahara, M. (2003). Analysis of 16S rRNA gene sequences of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, and *Wolbachia* species from canine blood in Japan. *Ann N Y Acad Sci*, 990, 692–698.
34. Little, S. E. (2010). Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 40, 1121–1140.
35. Harvey, J. W. (2006). Neorickettsiosis, Anaplasmosis, and *Wolbachia* Infection. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. 3ª Edição. Saunders. St. Louis, Missouri. pp. 229-232.
36. Sainz, A.; Tesouro, M. A.; Amusatogui, I.; Rodriguez, F.; Mazzucchelli, F.; Rodriguez, M. (2000). Prospective comparative study of 3 treatment protocols using doxycycline or imidocarb dipropionate in dogs with naturally occurring ehrlichiosis. *J Vet Intern Med*, 14, 134–139.
37. Vasilopoulos, R. J.; Mackin, A. (2014). Immune-Mediated Thrombocytopenia (IMT). Ed. Rothrock, K. VIN, Associate Database. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?DiseaseId=1258>. (Acedido em 27/09/2014).
38. Messick, J. B. (2003). New perspectives about Hemotrophic *mycoplasma* (formerly, *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* species) infections in dogs and cats. *Vet Clin Small Anim*, 33, 1453–1465.
39. Shell, L. G.; Gunn, R. (2011). Hemotrophic Mycoplasmosis (Hemobartonellosis). VIN, Associate Database. Ed. Rothrock, K. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=782>. (Acedido em 21/07/2014).
40. Sykes, J. E. (2010). Feline Hemotropic Mycoplasmas. *Vet Clin Small Anim*, 40, 1157–1170.
41. Seneviratna, P.; Weerasinghe, N.; Ariyadasa, S. (1973). Transmission of *Haemobartonella canis* by the dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Res Vet Sci*, 14, 112–114.
42. Foley, J. E.; Harrus, S.; Poland, A. (1998). Molecular, clinical, and pathologic comparison of two distinct strains of *Haemobartonella felis* in domestic cats. *Am J Vet Res*, 59, 1581–1588.
43. Meinkoth, J. H.; Allison, R. W. (2007). Sample Collection and Handling: Getting Accurate Results. *Vet Clin Small Anim*, 37, 203–219.

44. Jensen, W. A.; Lappin, M. R.; Kamkar, S.; Reagan, W. J. (2001). Use of a polymerase chain reaction assay to detect and differentiate two strains of *Haemobartonella felis* in naturally infected cats. *Am J Vet Res*, 62, 604–608.
45. Tasker, S.; Binns, S. H.; Day, M. J.; Gruffydd-Jones, T. J.; Harbour, D. A.; Helps, C. R. (2003). Use of a PCR assay to assess the prevalence and risk factors for *Mycoplasma haemofelis* and “Candidatus *Mycoplasma haemominutum*” in cats in the United Kingdom. *Vet Rec*, 152, 193–198.
46. Dowers, K. L.; Tasker, S.; Radecki, S. V. (2009). Use of pradofloxacin to treat experimentally induced *Mycoplasma haemofelis* infection in cats. *Am J Vet Res*, 70, 105–111.
47. Simões, P. B.; Cardoso, L.; Araújo, M.; Yisaschar-Mekuzas, Y.; Baneth, G. (2011). Babesiosis due to the canine *Babesia microti*-like small piroplasm in dogs - first report from Portugal and possible vertical transmission. *Parasites & Vectors*, 4, 50.
48. Shell, L. (2012). Babesiosis. VIN, Associate Database. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=1181>. (Acedido em 05/10/2014).
49. Shell, L. (2012). Babesiosis. VIN, Associate Database. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=819>. (Acedido em 05/10/2014).
50. Schoeman, T.; Lobetti, R. G.; Jacobson, L. S. (2001). Feline babesiosis: signalment, clinical pathology and concurrent infections. *J S Afr Assoc*, 72, 4-11.
51. Camacho-García, A. T. (2006). Piroplasma infection in dogs in northern Spain. *Vet Parasitol*, 138, 97-102.
52. Cardoso, L.; Costa, A.; Tuna, J.; Vieira, L.; Eyal, O.; Yisaschar-Mekuzas, Y.; Baneth, G. (2008). *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* infections in dogs from northern Portugal. *Vet Parasitol*, 156, 199-204.
53. Cardoso, L.; Yisaschar-Mekuzas, Y.; Rodrigues, F. T.; Costa, A.; Machado, J.; Diz-Lopes, D.; Baneth, G. (2010). Canine babesiosis in northern Portugal and molecular characterization of vector-borne co-infections. *Parasites Vect*, 3, 27.
54. Holman, P. J.; Snowden, K. F. (2009). Canine Hepatozoonosis and Babesiosis, and Feline Cytauxzoonosis. *Vet Clin Small Anim*, 39, 1035–1053.
55. Camacho, A. T.; Guitian, F. J.; Pallas, E.; Gestal, J. J.; Olmeda, A. S.; Goethert, H. K.; Telford, S. R. III; Spielman, A. (2004). Azotemia and mortality among *Babesia microti*-like infected dogs. *J Vet Intern Med*, 18, 141-146.
56. Birkenheuer, A. J. (2009). Recognition & Management of Atypical Canine Babesiosis. ACVIM 2009.
57. Lin, E. C.-Y.; Chueh, L.-L.; Lin, C.-N. (2012). The therapeutic efficacy of two antibabesial strategies against *Babesia gibsoni*. *Vet Parasitol*, 186, 159-164.

58. Lin, M.-Y.; Huang, H.-P. (2010). Use of a doxycycline-enrofloxacin-metronidazole combination with/without diminazene diaceturate to treat naturally occurring canine babesiosis caused by *Babesia gibsoni*. *Acta Vet Scand*, 52, 27.
59. Plumb, D. C. (2011). Primaquine Phosphate. Plumb's Veterinary Drug Handbook. 7ª Edição. VIN. Disponível on-line: <http://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=4692198&pid=451&catid=&&print=1>. (Acedido em 13/11/2014). Shell, L. (2010). Hepatozoonosis (*H. canis*). VIN, Associate Database. Ed. Ronald, N. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=5071>. (Acedido em 27/10/2014).
60. Shell, L. (2010). Hepatozoonosis (*H. canis*). VIN, Associate Database. Ed. Ronald, N. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=5071>. (Acedido em 27/10/2014).
61. Rothrock, K. (2012). Hepatozoonosis. VIN, Associate Database. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=5522>. (Acedido em 16/11/2014).
62. Bowman, D. D.; Atkins, C. E. (2009). Heartworm Biology, Treatment, and Control. *Vet Clin Small Anim*, 39, 1127–1158.
63. Nelson, T.; McCall, J., W; Carithers, D. (2014). Current canine guidelines for the prevention, diagnosis, and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. Ed. Carithers, D. American heartworm Society. Disponível on-line: <https://www.heartwormsociety.org/images/pdf/2014-AHS-Canine-Guidelines.pdf>. (Acedido em 21/08/2014).
64. Rishniw, M. (2005). Dirofilariasis. VIN, Associate Database. Disponível on-line: <http://www.vin.com/Members/Associate/Associate.plx?from=GetDzInfo&DiseaseId=1176>. (Acedido em 22/09/2014).
65. Jones, S.; Graham, W; von Simson, C.; Stannard, R.; Carithers, D.; Payne, P.; Rehm, C.; Nelson, C. T.; Smith-Blackmore, M.; Clyde, E.; Zaffarano, B.; Miller, M.; Atkins, C.; McCall, J.; Loenser, M.; Rumschlag, T. (2014). Current Feline Guidelines for the prevention, diagnosis, and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in cats. American heartworm Society. Disponível on-line: <https://www.heartwormsociety.org/images/pdf/2014-AHS-Feline-Guidelines.pdf>. (Acedido em 02/11/2014).
66. Harvey, J. W. (2001). Examination of Blood Samples. In: Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. Saunders. Philadelphia, Pennsylvania. pp. 3-6, 8-20.
67. Weiss, D. J. (1984). Uniform evaluation and semiquantitative reporting of hematologic data in veterinary laboratories. *Vet Clin Pathol*, 13, 27-31.

68. Jain, N. C. (1986). Schalm's veterinary hematology. 4ª Edição. Lea & Febiger. Philadelphia, Pennsylvania.
69. Moritz, A.; Fickenscher, Y.; Meyer, K. (2004). Canine and feline hematology reference values for the ADVIA 120 hematology system. *Vet Clin Pathol*, 33, 32-38.
70. Zelmanovic, D.; Hetherington, E. J. (1998). Automated analysis of feline platelets in whole blood, including platelet count, mean platelet volume, and activation state. *Vet Clin Pathol*, 27, 2-9.
71. Meyer D. J.; Harvey, J. W. (1998). *Veterinary Laboratory Medicine. Interpretation and Diagnosis*. 2ª Edição. Saunders. Philadelphia, Pennsylvania.
72. Lilliehöök, I. (1997). Diurnal variation of canine blood leukocyte counts. *Vet Clin Pathol*, 26, 113–117.
73. Kohn, B.; Galke, D.; Beelitz, P.; Pfister, K. (2008). Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. *J Vet Intern Med*, 22, 1289–1295.
74. Meinkoth, J.; Kocan, A. A.; Loud, S. (2002). Clinical and hematologic effects of experimental infection of dogs with recently identified *Babesia gibsoni*-like isolates from Oklahoma. *J Am Vet Med Assoc*, 220, 185–189.
75. Lilliehöök, I.; Tvedten, H. (2003). Investigation of hypereosinophilia and potential treatments. *Vet Clin Small Anim*, 33, 1359–1378.
76. Sykes, J. E.; Terry, J. C.; Lindsay, L. L. (2008). Prevalences of various hemoplasma species among cats in the United States with possible hemoplasmosis. *J Am Vet Med Assoc*, 232, 372–379.
77. Harvey, J. W. (2000). Hemotropic Mycoplasmosis (Hemobartonellosis). In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3ª Edição. Ed. Saunders. St. Louis, Missouri. pp. 253-260.
78. Plumb, D. C. (2011). Doxycycline Calcium, Doxycycline Hyclate, Doxycycline Monohydrate. *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 7ª Edição. VIN. Disponível on-line: <http://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=4692198&pid=451&catid=&&print=1>. (Acedido em 13/11/2014).