



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)
REALIZADO NO LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO (UFRPE), RECIFE-PE,
BRASIL E NO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA (UNB), BRASÍLIA-DF, BRASIL**

**AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ERITROCITÁRIA EM CÃES:
A IMPORTÂNCIA DA CONTAGEM ABSOLUTA DE RETICULÓCITOS
COMPARADA À ANÁLISE SUBJETIVA DE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS
CONVENCIONAIS**

REBECCA GATIS GALVÃO

RECIFE, 2025



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)
REALIZADO NO LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO (UFRPE), RECIFE-PE,
BRASIL E NO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA (UNB), BRASÍLIA-DF, BRASIL

AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ERITROCITÁRIA EM CÃES:
A IMPORTÂNCIA DA CONTAGEM ABSOLUTA DE RETICULÓCITOS
COMPARADA À ANÁLISE SUBJETIVA DE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS
CONVENCIONAIS

Trabalho de conclusão de curso realizado como
encargo para obtenção do título de Bacharel(a)
em Medicina Veterinária, sob orientação da
Profa. Dra. Erika Fernanda Torres Samico
Fernandes Cavalcanti e co-orientação da Profa.
Dra. Miriam Nogueira Teixeira.

REBECCA GATIS GALVÃO

RECIFE, 2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecária Suely Manzi – CRB/4 - 809

G182a Galvão, Rebecca Gatis

Avaliação da regeneração eritrocitária em cães: a importância da contagem absoluta de reticulócitos comparada à análise subjetiva de parâmetros hematológicos convencionais: relatório do estágio supervisionado obrigatório (ESO) / Rebecca Gatis Galvão. – 2025.
64 f.: il.

Orientadora: Erika Fernanda Torres Samico Fernandes Cavalcanti.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, BR-PE, 2025.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária 2. Patologia clínica veterinária 3. Doenças transmissíveis Doenças infecciosas em animais I. Cavalcanti, Erika Fernanda Torres Samico Fernandes, orient. II. Título

CDD 636.089



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ERITROCITÁRIA EM CÃES:
A IMPORTÂNCIA DA CONTAGEM ABSOLUTA DE RETICULÓCITOS
COMPARADA À ANÁLISE SUBJETIVA DE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS
CONVENCIONAIS**

Relatório elaborado por
REBECCA GATIS GALVÃO

Aprovado em 07/08/2025

BANCA AVALIADORA

Prof^ª. Dr^a ERIKA FERNANDA TORRES SAMICO FERNANDES CAVALCANTI
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof^ª. Dr^a MIRIAM NOGUEIRA TEIXEIRA
Professora Aposentada do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Msc. JANAINA AZEVEDO GUIMARÃES
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Dr. ANDRÉ DE SOUZA SANTOS (membro suplente)
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Dedico este trabalho à Scarlett Moon, que chegou à minha vida no início da graduação e, com sua luz e companhia, tornou tudo mais leve e possível. Agradeço por ter me levado e buscado na universidade todos os dias, por ter assistido às aulas online comigo nos dias incertos da pandemia, por ter estado ao meu lado durante meus medos e inseguranças, e por ter suportado, com paciência, todas as minhas horas de estudo. Obrigada por me amar incondicionalmente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter direcionado todos os meus caminhos até aqui, não conforme os meus planos, mas segundo o Seu propósito. Obrigada à Virgem Maria, por sua intercessão e amor, mesmo nos momentos em que eu duvidei e questionei. Sou eternamente grata por constantemente abençoarem a minha vida.

Agradeço à minha mãe, Maria Dalva, por ter me incentivado a recomeçar e a buscar outro sonho, permitindo que eu usasse o tempo que fosse preciso para que eu pudesse me encontrar profissionalmente. Obrigada também por ter enfrentado toda a graduação comigo, muitas vezes deixando seus próprios objetivos de lado para me ajudar a conquistar o meu. Esse diploma também é seu.

Agradeço ao meu pai, Carlos, que, mesmo sem estarmos juntos todos os dias, esteve presente com apoio, cuidado e carinho, oferecendo tudo o que esteve ao seu alcance para que eu pudesse concluir essa jornada.

Agradeço à minha irmã, Rafaella, que literalmente investiu em mim. Sem hesitar, fez de tudo para que eu pudesse abraçar cada oportunidade que surgia, permitindo que eu aproveitasse ao máximo minha formação acadêmica. Obrigada, também, por sempre me lembrar da importância de desacelerar, descansar e de me divertir durante todo o processo.

Obrigada às bênçãos que Deus colocou na minha vida: Bambam, Joca e Scarlett. Darei o meu melhor todos os dias ao cuidar de outros animais, pois estarei sempre me inspirando e pensando em vocês. Amo os três imensamente. Dedeu tava certo.

Obrigada a todos os queridos amigos que fiz durante o curso. Agradeço, em especial, a Samuel Fernando dos Santos e Ingrid Cavalcanti do Nascimento Batista que foram meus parceiros de estudos, trabalhos e seminários durante os períodos mais difíceis da graduação.

Muito obrigada a cada professor que fez parte da minha formação acadêmica. Agradeço, em especial, aos meus mais queridos professores que tiveram papel fundamental para que minha trajetória na graduação fosse além das salas de aula. Ao professor Eduardo Alberto Tudury, que deu uma chance àquela menina do 2º período que tanto lhe insistia por um estágio. Obrigada por ter me introduzido ao fascinante universo da cirurgia e das pesquisas, por ter me concedido minha primeira iniciação científica e por ter aberto oportunidades para minhas primeiras publicações. À professora Miriam Nogueira Teixeira que fez com que eu me apaixonasse completamente pela patologia clínica. Mesmo diante de um cenário de aulas online e da época trágica da pandemia da Covid-19, suas aulas e seu incentivo me deram a certeza de que eu havia encontrado o meu lugar na medicina veterinária. Obrigada por ter me encorajado

durante minha participação na monitoria, no grupo de estudos e por ter aceitado ser minha co-orientadora neste trabalho de conclusão. À professora Erika Fernanda Torres Samico Fernandes Cavalcanti, obrigada por ter aceitado ser minha orientadora, sempre demonstrando imensa gentileza e atenção comigo. Obrigada por ter escutado minhas ideias, abraçado minhas escolhas e me incentivado a fazer o que eu gostava. Sou imensamente grata por ter me conduzido durante o encerramento deste ciclo da melhor maneira que eu poderia desejar e por ter tornado a última disciplina da minha graduação a mais incrível de todas.

A toda equipe do LPCV-UFRPE, obrigada por terem tornado os meus primeiros passos na prática da patologia clínica os mais incríveis possíveis. Sou grata por tudo que me ensinaram e por todo apoio que recebi ao longo dos meus anos de estágio e monitoria.

A toda equipe do LDIC-UFRPE e LPCV-UnB, obrigada por terem me recebido durante meu estágio final, por terem me acolhido tão bem e por me fazerem sentir parte da equipe.

Agradeço, por fim, à minha universidade, a UFRPE, por ter proporcionado minha formação acadêmica, oferecido oportunidades e vivências marcantes ao longo da graduação, e por ter me dado a chance de conhecer profissionais inspiradores e fazer grandes amizades.

“Welcome to the real world! It sucks. You’re gonna love it.”
Friends.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1:** Local do estágio (UFRPE). (A) Acesso de funcionários e estudantes ao DMV-UFRPE; (B) Acesso de tutores e animais ao HVU-UFRPE; (C) Acesso ao LDIC-UFRPE; (D) Entrada do LDIC/UFRPE..... 18
- Figura 2:** Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LDIC-UFRPE). (A) Perspectiva a partir da entrada do laboratório. Observa-se região com equipamentos e material de uso coletivo pela equipe. À direita, vê-se as cabines de segurança biológica; (B) Perspectiva a partir do fundo do laboratório. À esquerda, vê-se a porta da sala administrativa; (C) Área para recebimento de amostras; (D) Geladeiras e material destinados à coloração de Gram (à direita). Ao fundo, observa-se as portas do almoxarifado e sala para extração de DNA..... 19
- Figura 3:** Salas de análises microbiológicas. (A) Sala de análise bacteriológica; (B) Sala de análise micológica. 20
- Figura 4:** Sala anexa do LDIC-UFRPE. (A) À esquerda, observa-se a estufa para secagem utilizada na rotina e material recém esterilizado embalado a ser inserido nela; (B) Vê-se a autoclave utilizada para desinfecção e, à direita, a autoclave utilizada para esterilização.....21
- Figura 5:** Coleta de amostras em caprino no ambulatório de grandes animais (AGA-HVU). (A) Raspado de pele para cultura fúngica com uso de lâmina; (B) Coleta de pelos para cultura fúngica. 22
- Figura 6:** Semeio para cultura bacteriológica. (A) Semeio de amostra de urina em Ágar Cled; (B) Semeio de amostra de líquido cefalorraquidiano em Ágar Base acrescido de 5% de sangue ovino. 23
- Figura 7:** Caracterização das colônias e alterações em meios de cultura. (A) Colônias amarelas, cremosas, circulares e tamanhos variando de puntiformes a pequenas; (B) Colônias cinzas, cremosas, circulares e tamanhos variando de pequenas a médias; (C) Alteração de cor (amarelo) em meio Ágar Cled indicando fermentação da lactose; (D) Alteração em meio Ágar Base acrescido de 5% de sangue ovino apresentando zona clara e transparente ao redor da colônia indicando hemólise completa (β -hemólise). 25
- Figura 8:** Coloração de Gram e teste de catalase. (A) Cocobacilos Gram-negativos; (B) Cocos Gram-positivos; (C) Aparecimento de bolhas indicando teste de catalase positivo..... 26
- Figura 9:** Provas de bile esculina e caldo de BHI com 6,5% de NaCl. (A) À direita, tubo com meio inclinado amarelo referente à prova de bile esculina. À esquerda, tubo contendo caldo BHI com 6,5% de NaCl e indicador de pH na cor roxa; (B) Após a incubação: à direita,

escurecimento do meio devido à hidrólise da esculina e formação de esculetina, que reage com íons de ferro formando complexo preto (prova positiva). À esquerda, ausência de turbidez e de mudança na coloração do indicador, indicando ausência de crescimento bacteriano em BHI com sal (prova negativa). 27

Figura 10: Testes bioquímicos. (A) Observa-se, da esquerda para direita, os testes de Citrato, TSI, PAD, SIM, Lisina, VM, VP, Ureia antes da inoculação; (B) Citrato: resultado negativo; (C) TSI: fermentação de glicose, lactose e sacarose positiva; produção de H₂S negativa; formação de gás ausente; (D) PAD: resultado negativo; (E) SIM: produção de indol positiva, produção de H₂S negativa; motilidade positiva; (F) Lisina: resultado positivo; (G) VM: resultado positivo; (H) VP: resultado negativo; (I) Ureia: resultado negativo..... 29

Figura 11: Processamento de cultura fúngica. (A) Aspecto macroscópico da cultura de *Aspergillus* spp.; (B) Cabeças conidiais de *Aspergillus* spp. corado em azul de algodão (aumento de 40×); (C) Confeção de lâmina com azul de algodão; (D) Aspectos algodonosos de culturas fúngicas..... 30

Figura 12: Antibiógrama. (A) Confeção de antibiógrama em Ágar Mueller-Hinton; (B) Medição do halo de inibição de antibiógrama para determinar a sensibilidade de uma bactéria a um determinado antibiótico. 31

Figura 13: Local do Estágio. (A) Entrada do HVET-UnB; (B) Corredores do HVET que dão acesso a diferentes setores. Ao fundo, observa-se o corredor que dá acesso ao LPCV-UnB; (C) Acesso ao LPCV-UnB; (D) Entrada do LPCV-UnB. 33

Figura 14: LPCV-UnB (análises clínicas). (A) Recebimento de amostras e emissão de laudos; (B) Exames bioquímicos; (C) Diluições e contagem hematológica automática; (D) Confeção de esfregaços e da técnica de microhematócrito; (E) Coloração de esfregaços; (F) Processamento de urina e líquidos cavitários; (G) Microscópios; (H) Ambiente para estudo de casos clínicos e de lâminas. 35

Figura 15: Recepção. (A) Área para recebimento de amostras e emissão de laudos; (B) Registro no caderno de controle interno do laboratório..... 37

Figura 16: Processamento de amostras de sangue para hemograma. (A) Diluição de amostra sanguínea de mamífero com reagente Turk; (B) Confeção de esfregaço sanguíneo..... 38

Figura 17: Análise microscópica (hemograma). (A) Avaliação de esfregaço sanguíneo; (B, C, D, E) Setas indicam neutrófilo, eosinófilo, basófilo e plaquetas, respectivamente, de cavalo, corados pelo método de Rosenfeld (aumento de 100×); (F, G, H, I) Setas indicam heterófilo, eosinófilo, basófilo e trombócitos, respectivamente, de papagaio, corados pelo método de Rosenfeld (aumento de 100×). 39

Figura 18: Análise bioquímica em equipamento automático.....40

Figura 19: Urinálise de cão. (A) Uso de pó de enxofre para detecção de sais biliares (teste negativo); (B e C) Cristais de estruvita (seta) e eritrócitos (ponta de seta) em sedimento urinário (aumento de 40x e 20x, respectivamente); (D) Bactérias em forma de bastão em sedimento urinário, corado pelo método de panótico rápido (aumento de 100x).....41

Figura 20: Efusão cavitária pericárdica hemorrágica de cão. (A) Amostras em tubo com EDTA (esquerda) e com ativador de coágulo (direita); (B) Cristais de hematóidina (seta), corado pelo método de Rosenfeld (aumento de 100x); (C) Eritrofagocitose (seta), corado pelo método de Rosenfeld (aumento de 100x).....42

CAPÍTULO 2

Figura 1: Frequência dos tipos de achados sugestivos de regeneração observados entre os casos de anemia regenerativa e não regenerativa, considerando a contagem absoluta de reticulócitos.56

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Testes bioquímicos para diferenciação de gêneros da família Enterobacteriaceae..	28
Tabela 2: Número de animais cujas amostras foram processadas no LDIC-UFRPE no período do estágio.....	32
Tabela 3: Número de exames realizados no LDIC-UFRPE no período do estágio.	32
Tabela 4: Número de animais cujas amostras foram processadas no LPCV-UnB no período do estágio.....	45
Tabela 5: Número de exames realizados no LPCV-UnB no período do estágio.	46

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Número de casos de anemia regenerativa e não regenerativa, considerando a contagem absoluta de reticulócitos, distribuídos de acordo com o quantitativo de achados sugestivos de regeneração identificados no eritrograma.	57
Tabela 2: Sensibilidade, especificidade, acurácia e Kappa do uso do número de achados sugestivos de regeneração agrupados em diferentes critérios para classificar as anemias como regenerativas, tendo como referência a contagem absoluta de reticulócitos.	58

RESUMO

Este trabalho descreve, em seu capítulo 1, as atividades realizadas durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO), disciplina obrigatória do último semestre do curso de bacharelado em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). O estágio, sob orientação da Prof^ª. Dr^ª. Erika Fernanda Torres Samico Fernandes Cavalcanti e co-orientação da Prof^ª. Dr^ª. Miriam Nogueira Teixeira, foi realizado no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LDIC-UFRPE), supervisionado pela Msc. Gabriela Gonçalves da Silva, e no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade de Brasília (LPCV-UnB), supervisionado pela Prof^ª. Dr^ª. Giane Regina Paludo. Já no capítulo 2, é redigido um artigo científico intitulado “Avaliação da regeneração eritrocitária em cães: a importância da contagem absoluta de reticulócitos comparada à análise subjetiva de parâmetros hematológicos convencionais”, elaborado a partir de um estudo retrospectivo de laudos de hemogramas de cães anêmicos contendo a contagem de reticulócitos.

Palavras-chaves: laboratório; patologia clínica; doenças infectocontagiosas.

ABSTRACT

This work describes, in Chapter 1, the activities carried out during the Supervised Mandatory Internship (SMI), a compulsory subject in the final semester of the Veterinary Medicine bachelor's degree course at the Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). The internship, under the supervision of Prof. Dr. Erika Fernanda Torres Samico Fernandes Cavalcanti and co-supervision of Prof. Dr. Miriam Nogueira Teixeira, was conducted at the Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LDIC-UFRPE), supervised by MSc. Gabriela Gonçalves da Silva, and at the Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade de Brasília (LPCV-UnB), supervised by Prof. Dr. Giane Regina Paludo. In Chapter 2, a scientific article is presented entitled "Evaluation of erythrocyte regeneration in dogs: the importance of the absolute reticulocyte count compared to the subjective analysis of conventional hematological parameters," based on a retrospective study of hemogram reports from anemic dogs containing reticulocyte counts.

Key words: laboratory; clinical pathology; infectious diseases.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO).....	16
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO (LDIC-UFRPE).....	18
2.1 Descrição do Local.....	18
2.2 Descrição das Atividades Realizadas.....	21
2.3 Casuística	32
3 LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA (LPCV-UnB).....	33
3.1 Descrição do Local.....	33
3.2 Descrição das Atividades Realizadas.....	36
3.3 Casuística	44
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
 CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ERITROCITÁRIA EM CÃES: A IMPORTÂNCIA DA CONTAGEM ABSOLUTA DE RETICULÓCITOS COMPARADA À ANÁLISE SUBJETIVA DE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS CONVENCIONAIS ...	48
RESUMO	49
ABSTRACT	50
1 INTRODUÇÃO	51
2 MATERIAL E MÉTODOS	54
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4 CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	62

**CAPÍTULO 1 – RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO
OBRIGATÓRIO (ESO)**

1 INTRODUÇÃO

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) é um componente curricular obrigatório pertencente ao último semestre do curso de Bacharelado em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Possuindo uma carga horária de 420 horas, o estágio busca inserir o estudante na rotina profissional de uma ou mais áreas de interesse, oferecendo experiência prática e a oportunidade de aplicar os conhecimentos teóricos obtidos durante a graduação.

O estágio ocorreu em dois locais diferentes abrangendo duas áreas distintas: a Microbiologia Veterinária e a Patologia Clínica Veterinária. A primeira área foi vivenciada no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LDIC-UFRPE) e a segunda foi vivenciada no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade de Brasília (LPCV-UnB).

A parte compreendida na UFRPE foi supervisionada pela Msc. Gabriela Gonçalves da Silva e foi realizada nos períodos de 14 a 22 de abril e 30 de junho a 11 de julho de 2025. A parte compreendida na UnB foi supervisionada pela Prof^a. Dr^a. Giane Regina Paludo e foi realizada no período de 28 de abril a 20 de junho de 2025.

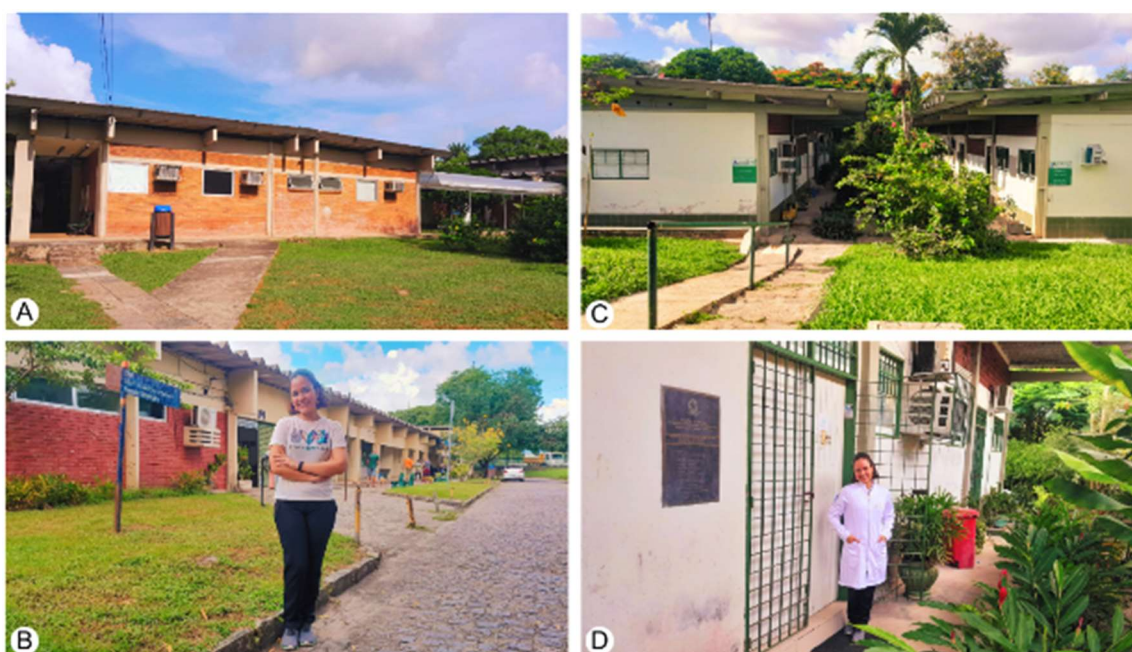
O Estágio Supervisionado Obrigatório foi orientado pela Prof^a. Dr^a. Erika Fernanda Torres Samico Fernandes Cavalcanti e co-orientado pela Prof^a. Dr^a. Miriam Nogueira Teixeira.

2 LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO (LDIC-UFRPE)

2.1 Descrição do Local

O Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LDIC) se localiza dentro do Hospital Veterinário Universitário (HVV) pertencente ao Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) (Figura 1).

Figura 1: Local do estágio (UFRPE). (A) Acesso de funcionários e estudantes ao DMV-UFRPE; (B) Acesso de tutores e animais ao HVV-UFRPE; (C) Acesso ao LDIC-UFRPE; (D) Entrada do LDIC-UFRPE.

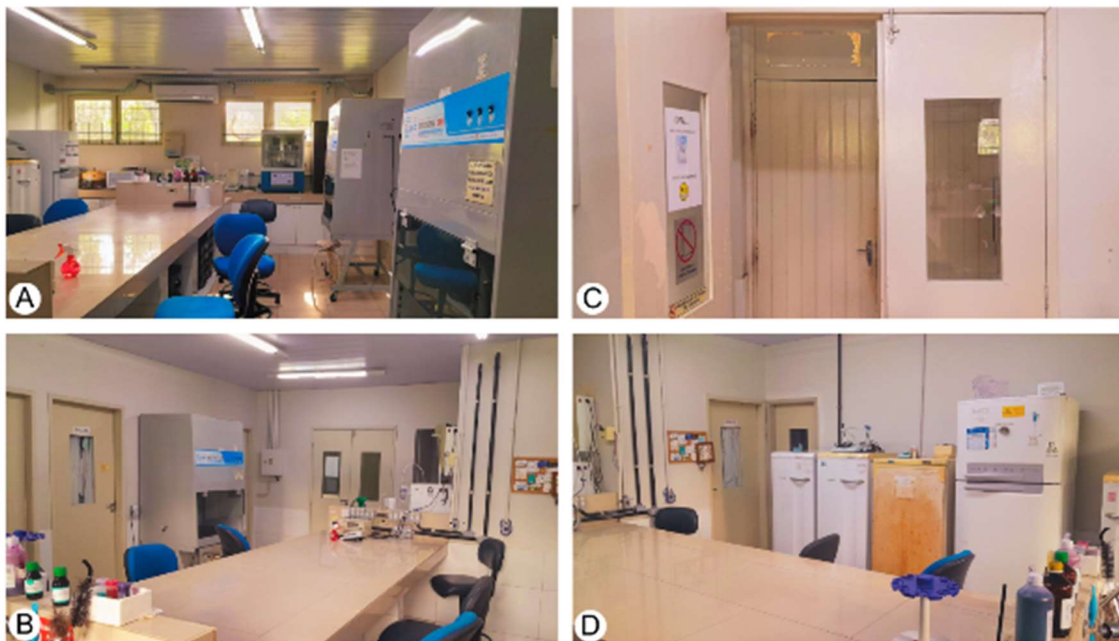


Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Situado no *campus* Dois Irmãos, Recife-PE, o LDIC-UFRPE, assim como os demais setores do HVV, oferecem serviços gratuitos. Operando de segunda a sexta-feira das 8:00 às 17:00, o laboratório atua na realização de diagnósticos microbiológicos, nos segmentos de bacteriologia e micologia, atendendo a demanda de animais atendidos no HVV, pesquisas de iniciação científica e pós-graduação, além da possibilidade de atendimento de demandas externas como produtores rurais e clínicas veterinárias. Adicionalmente, o LDIC-UFRPE proporciona aos estudantes de medicina veterinária da UFRPE um ambiente de aprendizado por meio de aulas práticas e estágios, além de possibilitar a médicos veterinários a realização de residência na área de medicina veterinária preventiva.

O Laboratório de Doenças infectocontagiosas (Figura 2) é constituído por salas específicas para análises bacteriológicas e micológicas, sala administrativa para a emissão de laudos e acondicionamento de requisições, almoxarifado, sala com equipamentos para extração de DNA e sala para os técnicos. Todas essas dependências são acessadas a partir de uma área comum, onde se encontram equipamentos e materiais a disposição para uso coletivo dos integrantes da equipe do laboratório. Nesse espaço, há geladeiras para acondicionamento de amostras em processamento, além de meios de cultura em placas de Petri®, antimicrobianos em discos e reagentes. No ambiente, também estão disponíveis balança de precisão, material para coloração de Gram, estufa (Lufenco®) e cabines de segurança biológica (Veco® BIO SEG 09). Essa área conta, ainda, com um espaço na entrada reservado para o recebimento de amostras.

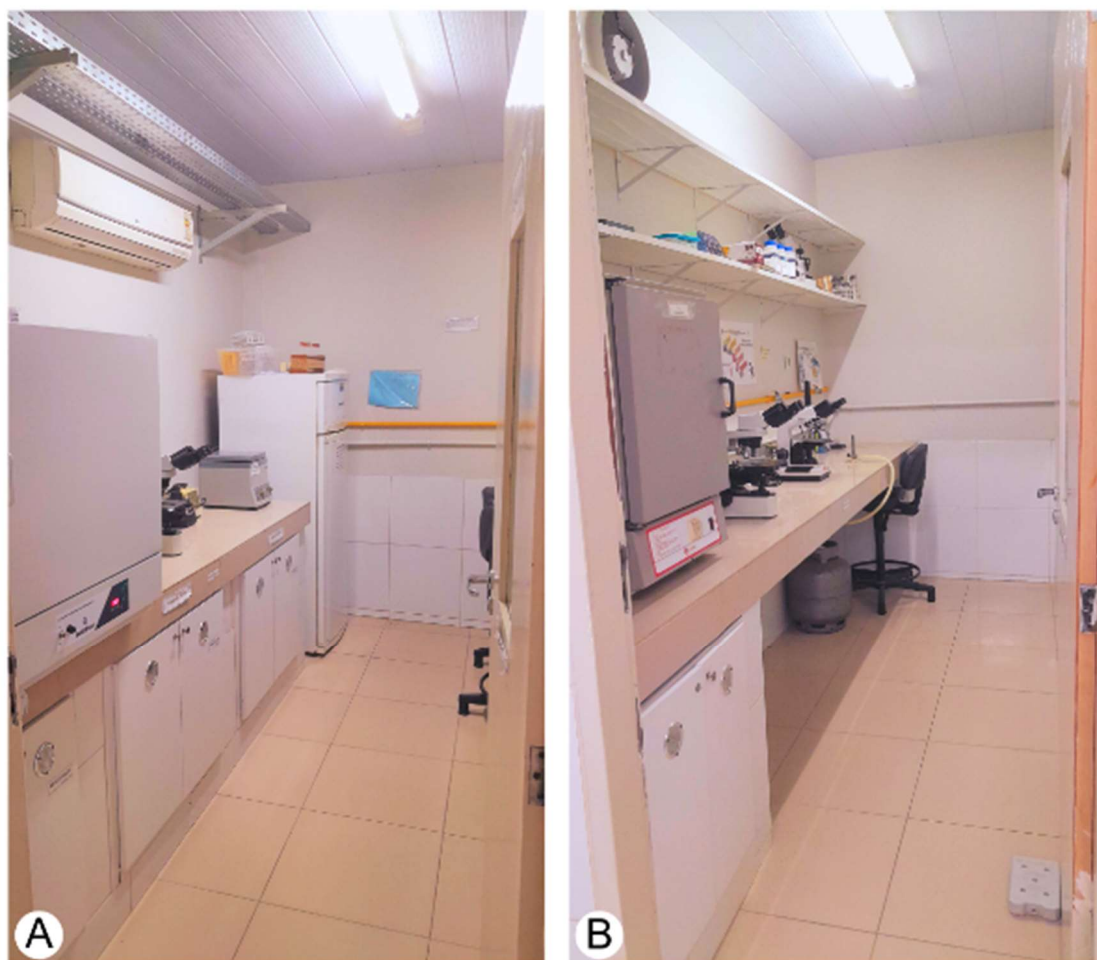
Figura 2: Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LDIC-UFRPE). (A) Perspectiva a partir da entrada do laboratório. Observa-se região com equipamentos e material de uso coletivo pela equipe. À direita, vê-se as cabines de segurança biológica; (B) Perspectiva a partir do fundo do laboratório. À esquerda, vê-se a porta da sala administrativa; (C) Área para recebimento de amostras; (D) Geladeiras e material destinados à coloração de Gram (à direita). Ao fundo, observa-se as portas do almoxarifado e sala para extração de DNA.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Destaca-se que as salas de análise bacteriológica e micológica (Figura 3) são devidamente equipadas com microscópios (Olympus® BX41) e estufas bacteriológica (SolidSteel®) e micológica (Quimis®), respectivamente.

Figura 3: Salas de análises microbiológicas. (A) Sala de análise bacteriológica; (B) Sala de análise micológica.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Ressalta-se, ainda, que o LDIC-UFRPE conta com uma sala anexa (Figura 4) destinada à esterilização, desinfecção, lavagem e secagem de material. Nesse espaço, destaca-se a presença de duas autoclaves verticais analógicas (Quimis® e Phoenix®): uma utilizada para esterilização de material como vidrarias e meios de cultura, e outra destinada à desinfecção de meios com agentes cultivados e amostras já processadas para descarte.

Figura 4: Sala anexa do LDIC-UFRPE. (A) À esquerda, observa-se a estufa para secagem utilizada na rotina e material recém esterilizado embalado a ser inserido nela; (B) Vê-se a autoclave utilizada para desinfecção e, à direita, a autoclave utilizada para esterilização.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

2.2 Descrição das Atividades Realizadas

As atividades desenvolvidas no LDIC-UFRPE foram executadas de segunda à sexta-feira das 8:00 às 12:00 e das 13:00 às 17:00 e consistiam na participação da rotina dos exames bacteriológicos e micológicos. Incluíam-se o recebimento ou coleta de amostras de pacientes dos ambulatórios de pequenos e grandes animais do HVU, processamento das amostras e isolamento dos agentes patogênicos, bem como realização

de testes e/ou procedimentos para identificá-los após o cultivo. Testes de sensibilidade antimicrobiana também faziam parte da rotina de estágio. As técnicas executadas para o desenvolvimento das atividades do estágio seguiam descrições segundo Koneman *et al.* (2018).

As amostras recebidas ou coletadas (Figura 5) no período do estágio consistiam majoritariamente em *swabs* de lesão, urina e pelos. Para amostras recebidas, verificava-se o acondicionamento adequado e conferiam-se as requisições quanto ao preenchimento, assinatura e carimbo do médico veterinário, sendo estas posteriormente arquivadas em pastas específicas.

Figura 5: Coleta de amostras em caprino no ambulatório de grandes animais (AGA-HVU). (A) Raspado de pele para cultura fúngica com uso de lâmina; (B) Coleta de pelos para cultura fúngica.

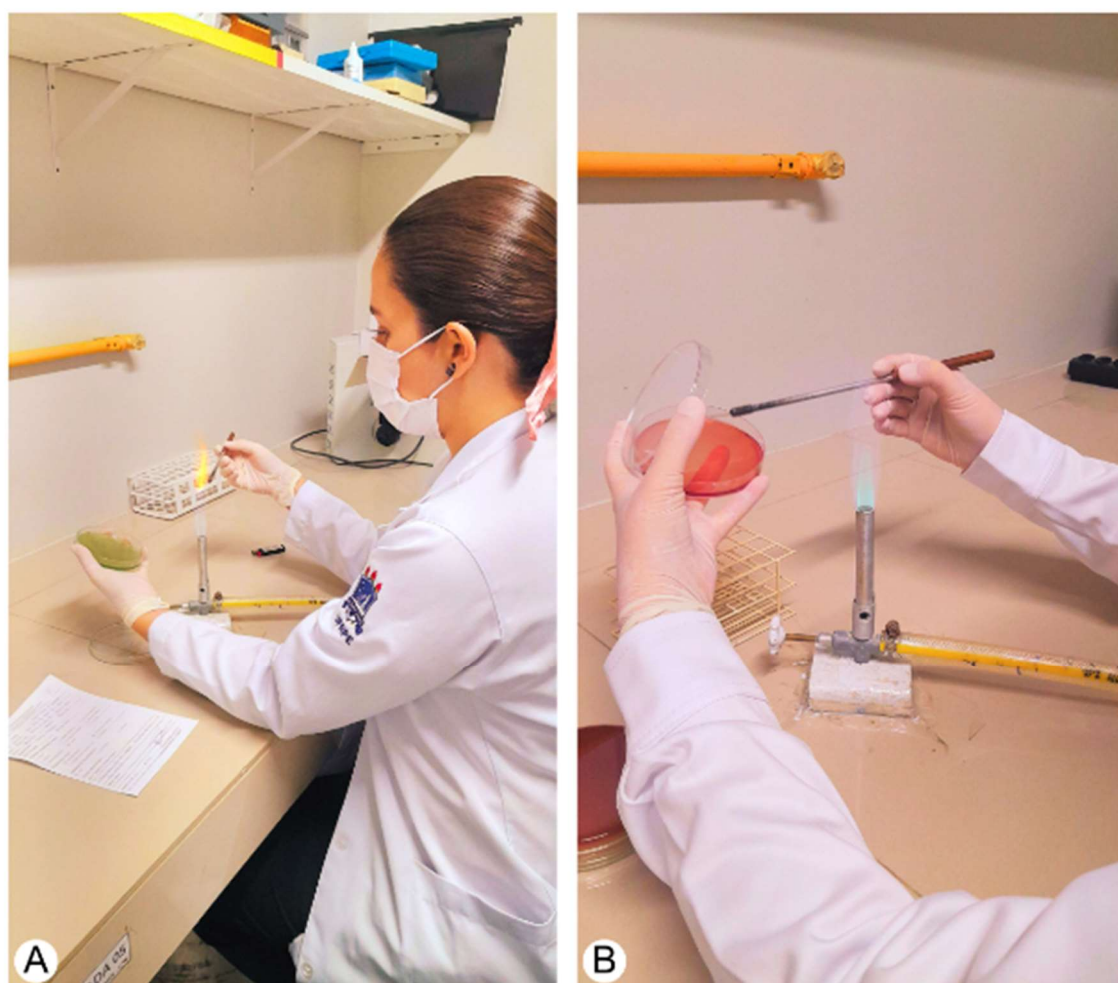


Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Para amostras que tinham solicitação de cultivo bacteriano, eram utilizados na rotina meios de cultura sólidos como Ágar MacConkey, Cled (Cystine Lactose

Electrolyte Deficient), Base acrescido de 5% de sangue ovino ou Brain-Heart-Infusion (BHI), sendo a técnica de esgotamento a mais empregada para obtenção de colônias isoladas (Figura 6). O material biológico era depositado na parte superior da placa de Petri contendo o meio selecionado e, com o uso de alça microbiológica e auxílio da chama oxidante do bico de Bunsen, que reduzia o risco de contaminação durante o procedimento, realizava-se a semeadura com movimentos de zigue-zague fazendo uma divisão imaginária da placa em quatro quadrantes. Os meios Ágar Base acrescido de 5% de sangue ovino e Cled eram os mais frequentemente selecionados, especialmente para o isolamento inicial. O primeiro proporciona excelentes condições de crescimento para a maioria dos microrganismos, enquanto o segundo favorece o isolamento e a quantificação de microrganismos em amostras de urina, sem a interferência do *swarming* (formação de véu) por cepas de *Proteus* spp.

Figura 6: Semeio para cultura bacteriológica. (A) Semeio de amostra de urina em Ágar Cled; (B) Semeio de amostra de líquido cefalorraquidiano em Ágar Base acrescido de 5% de sangue ovino.



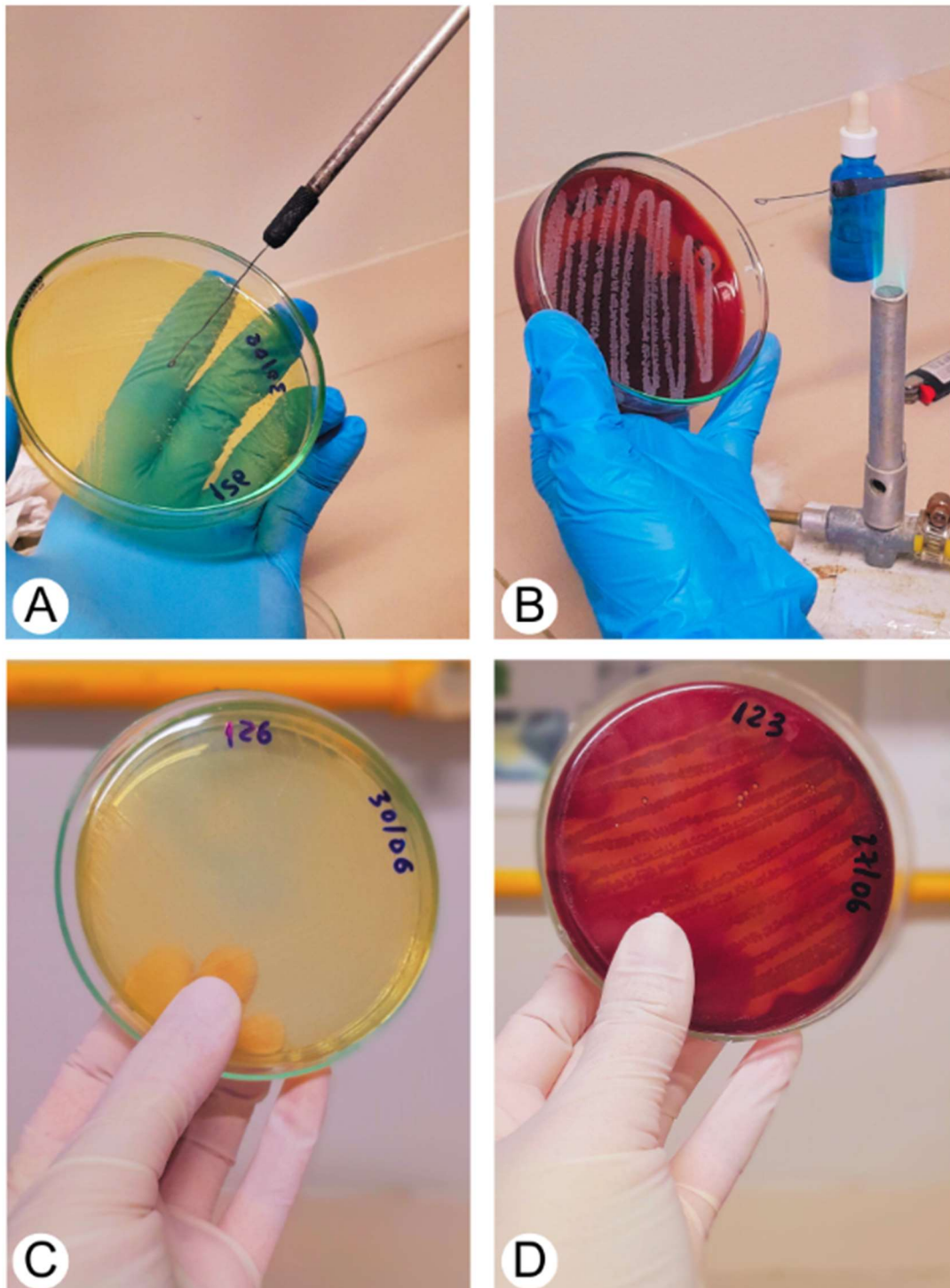
Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Para amostras que tinham solicitação de cultivo fúngico, eram utilizados na rotina meios de cultura sólidos como Ágar Mycosel ou Sabouraud. Para *swabs* de lesão, a técnica de semeadura consistia, com auxílio do próprio *swab*, na aplicação de estrias ao longo na placa. Já para pelos e raspado de pele, a amostra era depositada, com auxílio de pinça, em diferentes pontos do meio de cultura. O meio Ágar Sabouraud era o mais frequentemente selecionado por favorecer o crescimento tanto de fungos leveduriformes quanto de filamentosos. Todos os procedimentos eram feitos com auxílio da chama oxidante de bico de Bunsen.

Após processadas, as placas de cultivo bacteriano eram incubadas a uma temperatura de 37°C por até 3 dias, e as placas de cultivo fúngico, a 25°C por até 15 dias, em estufas específicas.

Após o término do crescimento bacteriano, registravam-se as características morfológicas das colônias tais como cor, consistência, forma e tamanho, bem como alterações no meio de cultura, que refletiam o metabolismo bacteriano (Figura 7).

Figura 7: Caracterização das colônias e alterações em meios de cultura. (A) Colônias amarelas, cremosas, circulares e tamanhos variando de puntiformes a pequenas; (B) Colônias cinzas, cremosas, circulares e tamanhos variando de pequenas a médias; (C) Alteração de cor (amarelo) em meio Ágar Cled indicando fermentação da lactose; (D) Alteração em meio Ágar Base acrescido de 5% de sangue ovino apresentando zona clara e transparente ao redor da colônia indicando hemólise completa (β -hemólise).

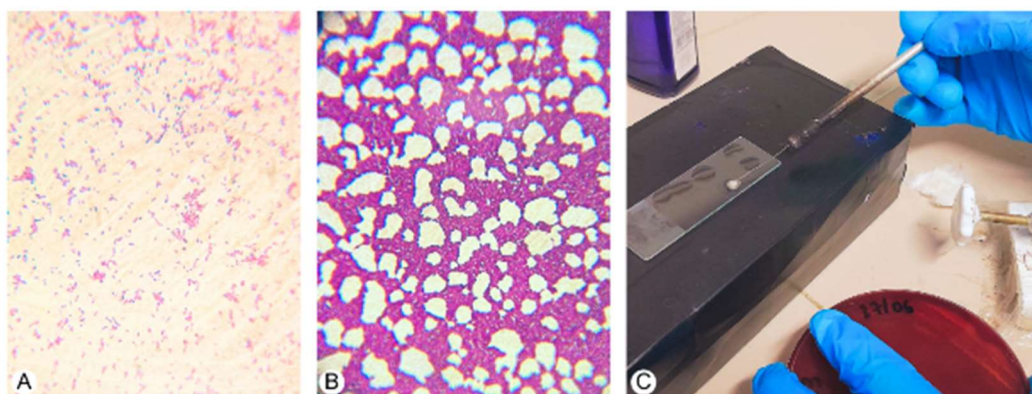


Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Em seguida, para fazer uma identificação preliminar do microrganismo, procedia-se com o teste da catalase, bem como a coloração de Gram (Figura 8). Para o

teste da catalase, um fragmento de colônia era colocado sobre uma lâmina de vidro e algumas gotas de peróxido de hidrogênio a 3% eram adicionadas. O aparecimento de bolhas, indicava que os microrganismos produziam a enzima catalase. Para a coloração de Gram, um fragmento de colônia era depositado sobre uma lâmina contendo uma gota de água destilada e, em seguida, o material era fixado com auxílio da chama do bico de Bunsen. Aplicava-se uma sequência de componentes (violeta genciana, lugol, descorante e fucsina) e, depois, a lâmina era avaliada ao microscópio. As bactérias que apresentavam cor roxa eram classificadas como Gram-positivas e as que apresentavam cor vermelha, como Gram-negativas. De modo complementar, poderia ser feito o teste da oxidase, utilizando fitas de kit comercial, cuja reação positiva indicava que a bactéria produzia a enzima citocromo-oxidase.

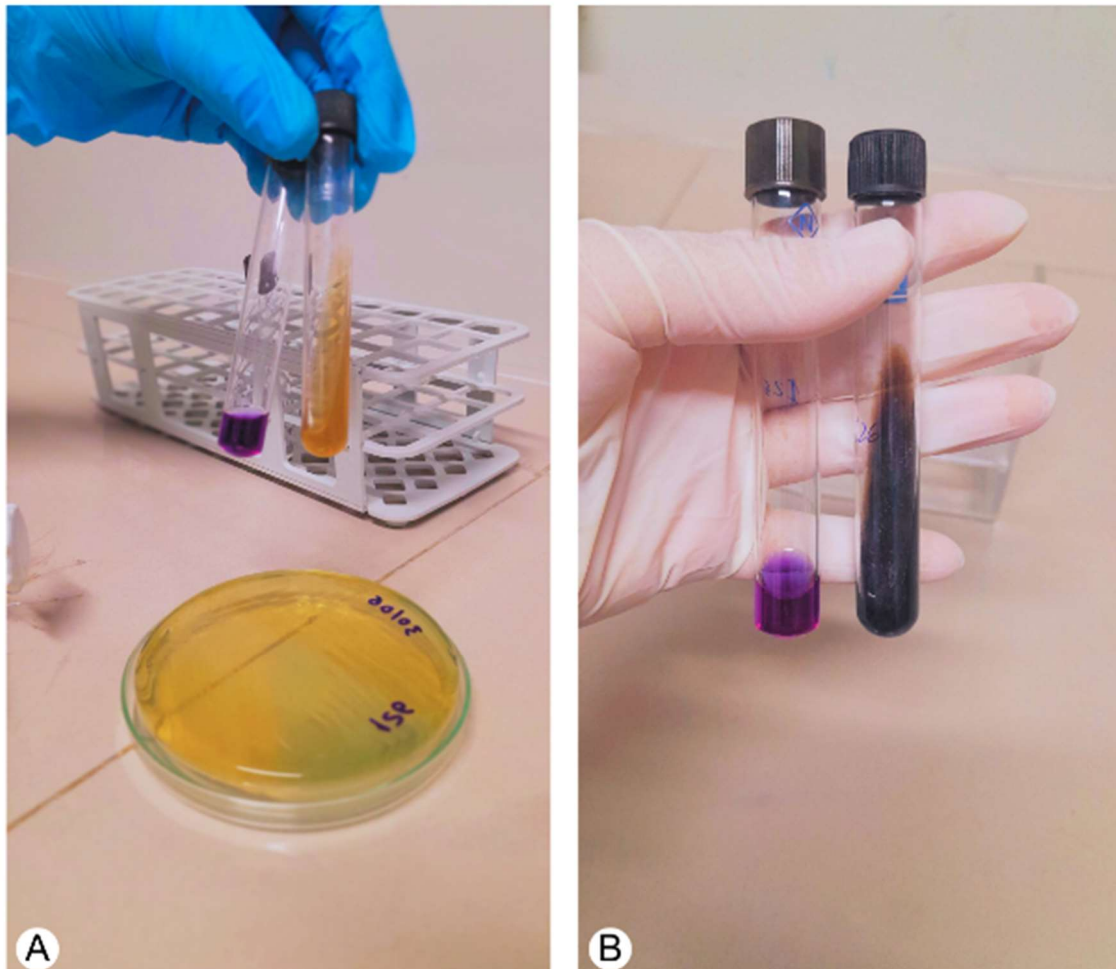
Figura 8: Coloração de Gram e teste de catalase. (A) Cocobacilos Gram-negativos; (B) Cocos Gram-positivos; (C) Aparecimento de bolhas indicando teste de catalase positivo.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Na presença de Gram-positivas, realizava-se a discriminação de cocos de *Staphylococcus* spp. pelo teste de catalase, previamente realizado, o qual apresentava resultado positivo para esse gênero. Em caso de catalase negativa, procedia-se à diferenciação entre *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. do grupo D de Lancefield por meio das provas de bile esculina e de crescimento em caldo de BHI acrescido de cloreto de sódio a 6,5%, seguidas de incubação por até 48h (Figura 9). Na prova de bile esculina, o resultado positivo indica que a bactéria pertence a esse grupo, uma vez que tanto *Enterococcus* spp. quanto *Streptococcus* spp. possuem capacidade de hidrolisar a esculina na presença de bile. A distinção entre os gêneros ocorre no teste de crescimento em caldo BHI com sal, no qual apenas os *Enterococcus* spp. conseguem se desenvolver sob essas condições.

Figura 9: Provas de bile esculina e caldo de BHI com 6,5% de NaCl. (A) À direita, tubo com meio inclinado amarelo referente à prova de bile esculina. À esquerda, tubo contendo caldo BHI com 6,5% de NaCl e indicador de pH na cor roxa; (B) Após a incubação: à direita, escurecimento do meio devido à hidrólise da esculina e formação de esculetina, que reage com íons de ferro formando complexo preto (prova positiva). À esquerda, ausência de turbidez e de mudança na coloração do indicador, indicando ausência de crescimento bacteriano em BHI com sal (prova negativa).



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

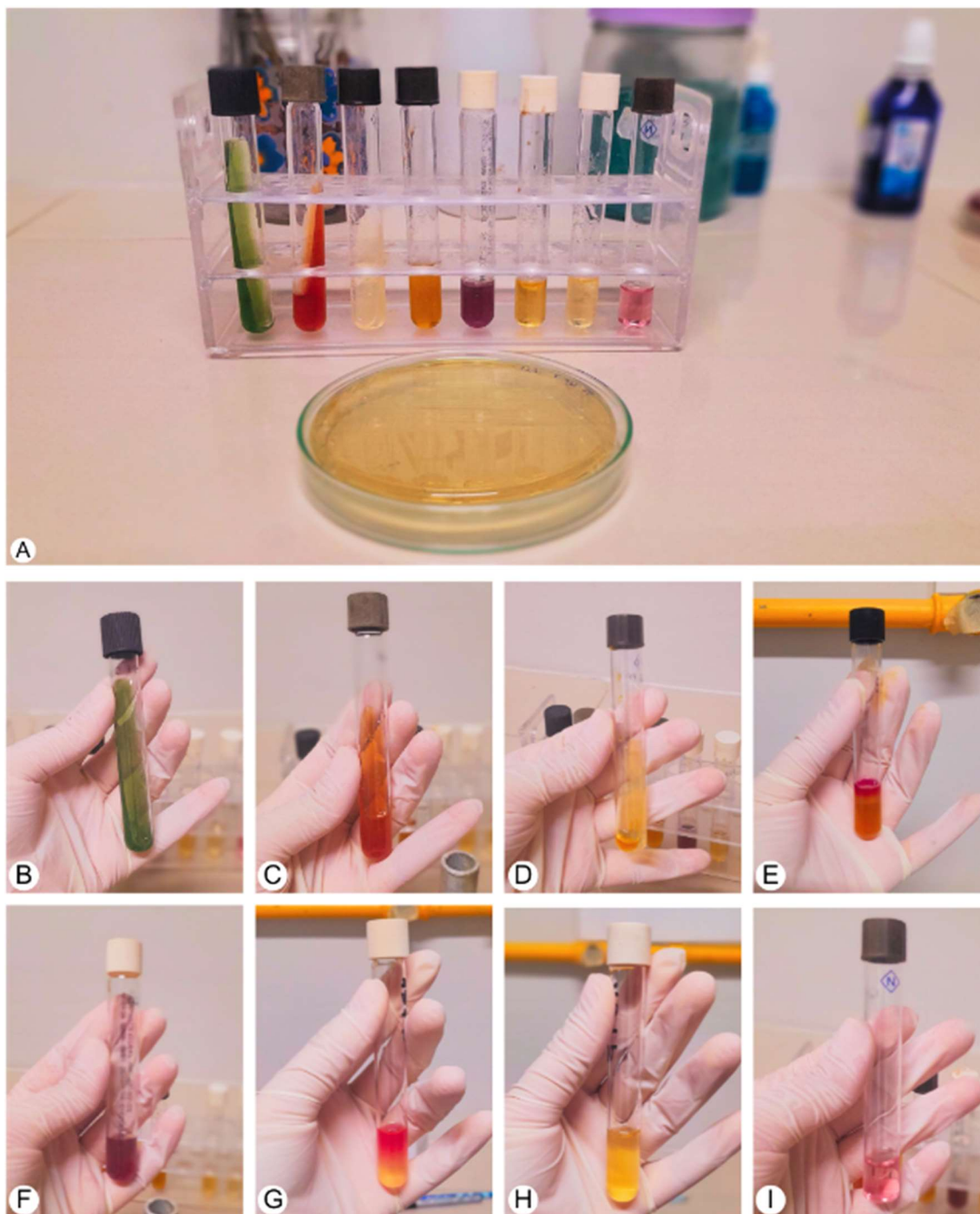
Na presença de Gram-negativas, podia-se realizar um repique da colônia em ágar MacConkey, meio seletivo para essas bactérias, seguido de incubação por 24 horas, a fim de garantir a pureza da cultura e evitar interferências na bateria de testes bioquímicos subsequente. Os testes bioquímicos (Tabela 1) eram destinados, principalmente, à diferenciação dos gêneros da família Enterobacteriaceae, grupo de maior relevância clínica. Fragmentos de colônias eram suspensos em solução salina estéril a 0,90%, inoculados nos respectivos meios e, após incubação por 24h, os resultados eram analisados (Figura 10) e inseridos em um software de identificação bacteriana (ABIS online™) que fornecia a probabilidade de a bactéria em questão pertencer a determinado gênero.

Tabela 1: Testes bioquímicos para diferenciação de gêneros da família Enterobacteriaceae.

MEIO	OBJETIVO DO TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
TSI (Ágar Tríplice Açúcar-Ferro) Cor original: vermelho.	Verificar fermentação de glicose, lactose, sacarose, produção de H ₂ S e formação de gás.	Fundo amarelo + superfície vermelho = fermentação apenas de glicose. Fundo + superfície amarelo = fermentação de glicose + lactose + sacarose. Precipitado preto = produção de H ₂ S. Bolhas = produção de gás.	Fundo amarelo + superfície vermelho = sem fermentação de lactose e sacarose. Fundo + superfície vermelho = sem fermentação. Sem precipitado preto = não produz H ₂ S Sem bolhas = não produz gás.
Citrato (Ágar Citrato Simmons) Cor original: verde.	Verificar capacidade de usar citrato como única fonte de carbono.	Azul = usou citrato.	Verde = não usou citrato.
Lisina (Ágar Lisina Descarboxilase) Cor original: roxo.	Verificar descarboxilação de lisina.	Roxo = houve descarboxilação da lisina.	Amarelo = não houve descarboxilação da lisina.
Ureia (Caldo de Ureia) Cor original: rosa claro.	Verificar presença de urease.	Rosa escuro = presença de urease.	Rosa claro = ausência de urease.
SIM (Ágar Sulfito de Hidrogênio, Indol e Motilidade) Cor original: amarelo.	Verificar produção de H ₂ S, indol e presença de motilidade.	Precipitado preto = produção de H ₂ S. Vermelho na superfície após adição de 3 gotas de Kovac = produção de Indol. Turvação = possui motilidade.	Sem precipitado preto = não produz H ₂ S. Amarelo na superfície após adição de 3 gotas de Kovac = não produz Indol. Crescimento apenas na linha de inoculação = não possui motilidade.
VM (Vermelho Metila) Cor original: amarelo-palha.	Verifica fermentação da glicose por via ácida mista, resultando na produção de diversos ácidos como o ácido fórmico, ácido láctico e ácido acético.	Vermelho após adição de 2 gotas de vermelho metila = Fermenta glicose por via ácida mista.	Amarelo-palha após adição de 2 gotas de vermelho metila = Não fermenta glicose por via ácida mista.
VP (Voges-Proskauer) Cor original: amarelo-palha.	Verifica fermentação da glicose por via butilenoglicólica, resultando na produção de acetil-metil-carbinol (acetoína), butilenoglicol e pequenas quantidades de ácidos carboxílicos.	Vermelho após adição de 0,6ml de α -naftol e 0,2 ml de KOH e aguardado 15 min = Fermenta glicose por via butilenoglicólica.	Amarelo-palha após adição de 0,6ml de α -naftol e 0,2 ml de KOH e aguardado 15 min = Não fermenta glicose por via butilenoglicólica.
PAD (Fenilalanina Desaminase) Cor original: amarelo.	Verifica presença de fenilalanina desaminase.	Superfície verde após adição de 2 gotas de cloreto férrico = presença de fenilalanina desaminase.	Superfície amarela após adição de 2 gotas de cloreto férrico = ausência de fenilalanina desaminase.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Figura 10: Testes bioquímicos. (A) Observa-se, da esquerda para direita, os testes de Citrato, TSI, PAD, SIM, Lisina, VM, VP, Ureia antes da inoculação; (B) Citrato: resultado negativo; (C) TSI: fermentação de glicose, lactose e sacarose positiva; produção de H₂S negativa; formação de gás ausente; (D) PAD: resultado negativo; (E) SIM: produção de indol positiva, produção de H₂S negativa; motilidade positiva; (F) Lisina: resultado positivo; (G) VM: resultado positivo; (H) VP: resultado negativo; (I) Ureia: resultado negativo.

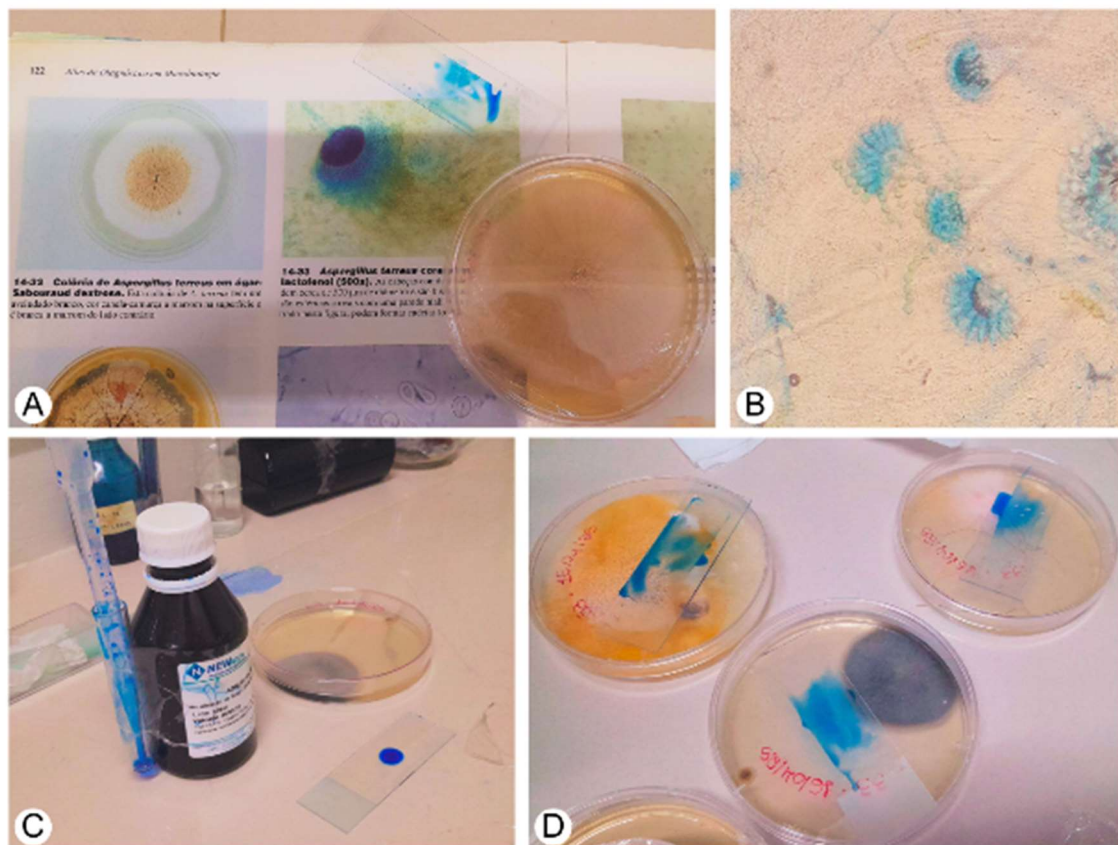


Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Após o término do crescimento fúngico, avaliavam-se as características morfológicas da cultura. Quando esta apresentava um aspecto algodono-
soso, pulverulento ou aveludado, retirava-se uma amostra com uso de fita adesiva, colocava-se sobre uma

lâmina contendo uma gota de azul de algodão e, em seguida, procedia-se com a análise microscópica. Eram investigadas hifas e, principalmente, estruturas reprodutivas, que auxiliavam na identificação do agente fúngico filamentoso (Figura 11). Caso as colônias apresentassem aspecto cremoso, liso, brilhante, a amostra era retirada com auxílio de alça microbiológica e depositada sobre uma lâmina contendo uma gota de água destilada. O material era fixado com auxílio da chama do bico de Bunsen, corado pela técnica de Gram e analisado ao microscópio onde eram investigadas estruturas fúngicas leveduriformes.

Figura 11: Processamento de cultura fúngica. (A) Aspecto macroscópico da cultura de *Aspergillus* spp.; (B) Cabeças conidiais de *Aspergillus* spp. corado em azul de algodão (aumento de 40×); (C) Confecção de lâmina com azul de algodão; (D) Aspectos algodonosos de culturas fúngicas.



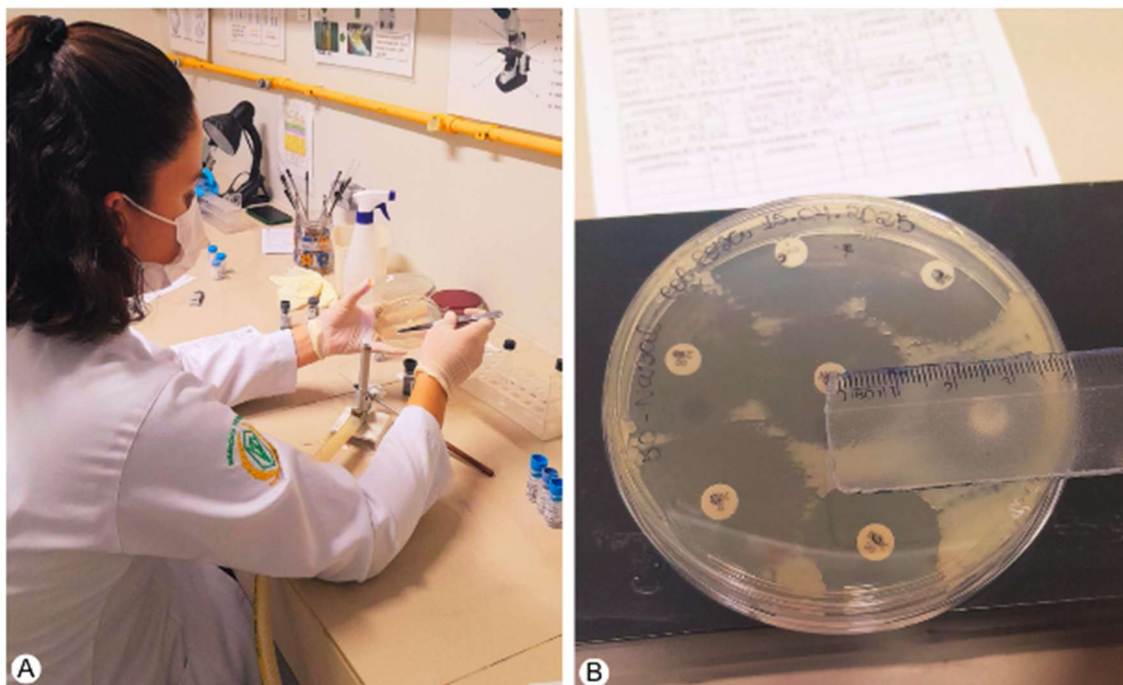
Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Exames fúngicos diretos também eram realizados quando solicitados pelo clínico. Para amostras obtidas por *swab* de lesão ou otológico, preparava-se um esfregaço, que era corado pela técnica de Panótico ou Gram e analisado ao microscópio, com a busca prioritária por estruturas leveduriformes. Já as amostras de pelos eram depositadas em uma lâmina com uma gota de hidróxido de potássio (KOH) e, após aproximadamente cinco minutos para clarificação, cobria-se com uma lamínula, procedendo-se à análise

microscópica para identificação, principalmente, de estruturas fúngicas reprodutivas compatíveis com as de dermatófitos.

Também eram executados antibiogramas (Figura 12) para a determinação da susceptibilidade bacteriana aos antibióticos. Com auxílio de alça microbiológica e chama de bico de Bunsen, coletava-se um fragmento da colônia desejada, que era suspenso em solução salina estéril a 0,9%. Um *swab* estéril era embebido na solução e utilizado para semear uma placa de Petri contendo meio Ágar Mueller-Hinton (MH), rico em nutrientes para execução de antibiogramas. Colocavam-se sete discos de antibióticos sobre a superfície do meio, selecionados de acordo com os antimicrobianos mais utilizados para tratar afecções em animais envolvendo o gênero bacteriano em questão, e incubava-se a 37°C por 18 a 24 horas. Decorrido o tempo de incubação, media-se, com auxílio de régua, os diâmetros dos halos de inibição, que eram interpretados segundo valores padronizados pelas diretrizes do CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute). A partir desses resultados, classificava-se o isolado bacteriano como sensível, com sensibilidade intermediária ou resistente aos antimicrobianos testados.

Figura 12: Antibiograma. (A) Confecção de antibiograma em Ágar Mueller-Hinton; (B) Medição do halo de inibição de antibiograma para determinar a sensibilidade de uma bactéria a um determinado antibiótico.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

2.3 Casuística

Durante o período do estágio no LDIC-UFRPE foram processadas amostras de 30 animais abrangendo diferentes espécies de mamíferos (Tabela 2). Foram realizados 47 exames (Tabela 3) sendo a cultura bacteriana o exame mais frequentemente executado no laboratório (21/47), seguido do antibiograma (16/47), cultura fúngica (9/47) e exame fúngico direto (1/47).

Tabela 2: Número de animais cujas amostras foram processadas no LDIC-UFRPE no período do estágio.

Animais	Quantidade
Cão (<i>Canis lupus familiaris</i>)	16
Gato (<i>Felis silvestris catus</i>)	7
Cavalo (<i>Equus caballus</i>)	4
Cabra (<i>Capra aegagrus hircus</i>)	2
Ovelha (<i>Ovis aries</i>)	1
Total	30

Fonte: Elaborado pela autora (2025)

Tabela 3: Número de exames realizados no LDIC-UFRPE no período do estágio.

Exames realizados	Quantidade
Cultura Bacteriana	21
Antibiograma	16
Cultura Fúngica	9
Exame Fúngico Direto	1
Total	47

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

3 LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA (LPCV-UnB)

3.1 Descrição do Local

O Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LPCV) se localiza dentro do Hospital-Escola Veterinário (HVET) pertencente à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV) da Universidade de Brasília (UnB) (Figura 13).

Figura 13: Local do Estágio. (A) Entrada do HVET-UnB; (B) Corredores do HVET que dão acesso a diferentes setores. Ao fundo, observa-se o corredor que dá acesso ao LPCV-UnB; (C) Acesso ao LPCV-UnB; (D) Entrada do LPCV-UnB.



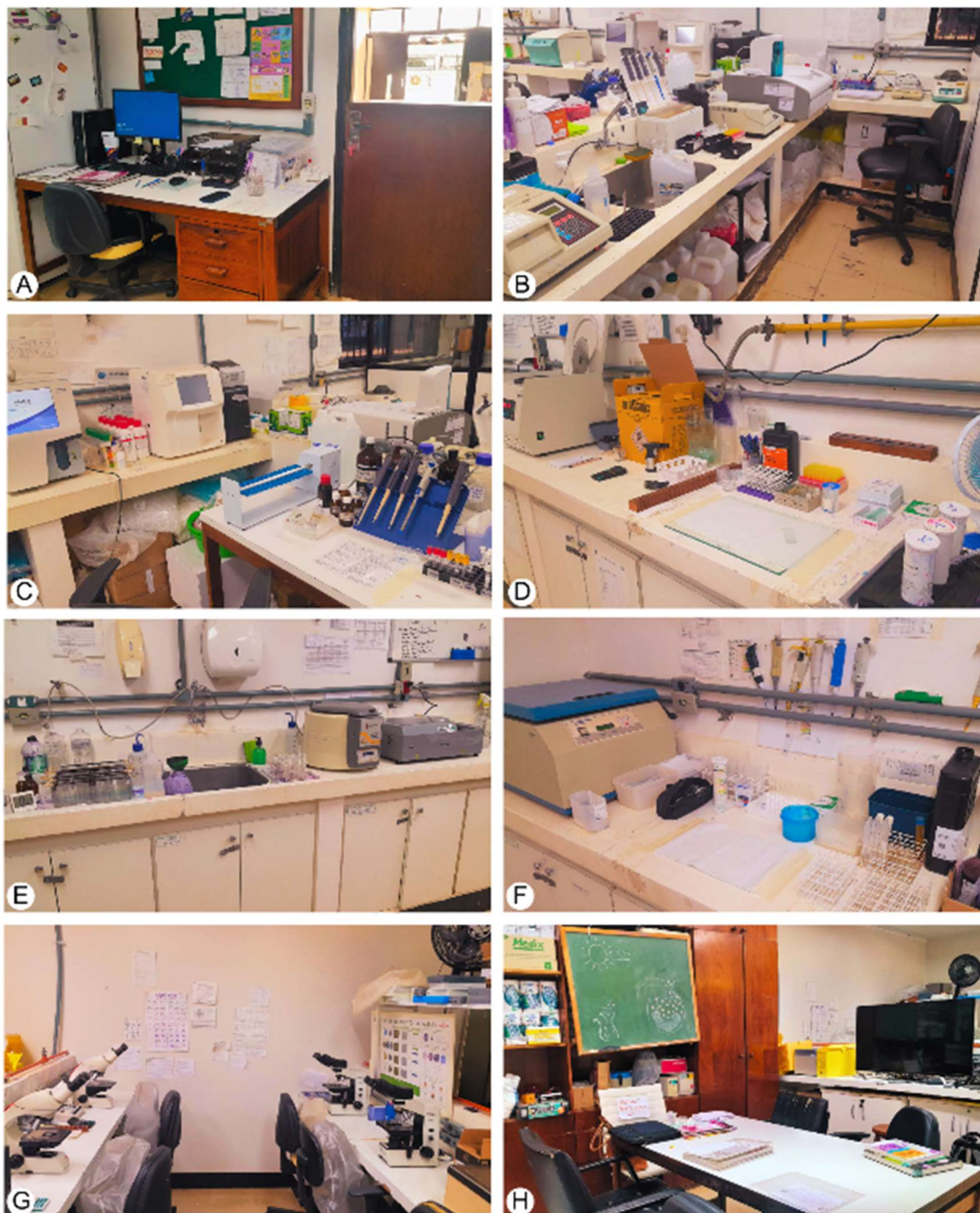
Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Situado no *campus* Darcy Ribeiro, Brasília-DF, o LPCV-UnB, assim como os demais setores do HVET, funcionam com serviços pagos. O laboratório funciona de segunda a sexta-feira, das 8:00 às 19:00, recebendo amostras até às 17:30, e está dividido em duas áreas: análises clínicas e diagnóstico molecular. Na primeira, o LPCV-UnB recebe amostras de animais atendidos no HVET e, enquanto na segunda, também é possível o recebimento de amostras externas. De forma adicional, o LPCV-UnB desempenha um papel acadêmico, permitindo que estudantes de medicina veterinária da

UnB curse disciplinas práticas na área da patologia clínica veterinária, realizem estágios ou iniciação científica. Além disso, médicos veterinários podem realizar residência na área, bem como desenvolver projetos de pós-graduação.

Na área destinada às análises clínicas, o LPCV-UnB é organizado em diferentes setores (Figura 14): recepção de amostras e emissão de laudos, execução de exames bioquímicos, preparo de diluições e contagem hematológica automática, confecção de esfregaços e realização da técnica de microhematócrito, coloração de esfregaços, processamento de amostras de urina e líquidos cavitários, análise microscópica e um espaço reservado para estudo de casos clínicos e de lâminas. Há uma sala anexa dedicada às atividades de diagnóstico molecular.

Figura 14: LPCV-UnB (análises clínicas). (A) Recebimento de amostras e emissão de laudos; (B) Exames bioquímicos; (C) Diluições e contagem hematológica automática; (D) Confeção de esfregaços e da técnica de microhematócrito; (E) Coloração de esfregaços; (F) Processamento de urina e líquidos cavitários; (G) Microscópios; (H) Ambiente para estudo de casos clínicos e de lâminas.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Ressalta-se que cada um dos setores são devidamente equipados para o processamento das amostras. Os exames bioquímicos contam com analisadores bioquímicos automático (Cobas c® 111) e semiautomático (Bioplus® BIO-2000), além de centrífugas Hettich® Universal 320 e Hettich® EBA 20C. Para a técnica de microhematócrito utiliza-se centrífuga EVEN® e para urina e líquidos cavitários são

utilizadas centrífugas Fanem® 206-BL e Cientec® 2000-D. A contagem hematológica automática é feita no analisador Mindray® BC-5000 Vet e coloração automática de esfregaços, no Vyttra SlideInk® Plus. Os microscópios utilizados são Leica® DM500 e Olympus® CX40.

3.2 Descrição das Atividades Realizadas

As atividades desenvolvidas no LPCV-UnB foram executadas de segunda à sexta-feira, das 8:00 às 12:00 e das 13:00 às 17:00, e consistiam na participação da rotina das análises clínicas. Incluía-se o recebimento de amostras de pacientes atendidos no HVET, seu processamento, análise microscópica e emissão de laudos. Técnicas executadas para o desenvolvimento das atividades do estágio seguiam descrições segundo Kaneko *et al.* (1997), Stockham e Scott (2011) e Brooks *et al.* (2022).

As amostras recebidas (Figura 15) no período do estágio consistiam em sangue, urina, líquidos cavitários e, com menor frequência, aspirado de medula óssea e líquido. As amostras recebiam um número de identificação, que era registrado em um caderno para controle interno do laboratório, e posteriormente eram encaminhadas para processamento específico. Ao término das análises, os laudos eram emitidos com auxílio de um modelo disponibilizado por meio do software adotado pela universidade.

Figura 15: Recepção. (A) Área para recebimento de amostras e emissão de laudos; (B) Registro no caderno de controle interno do laboratório.

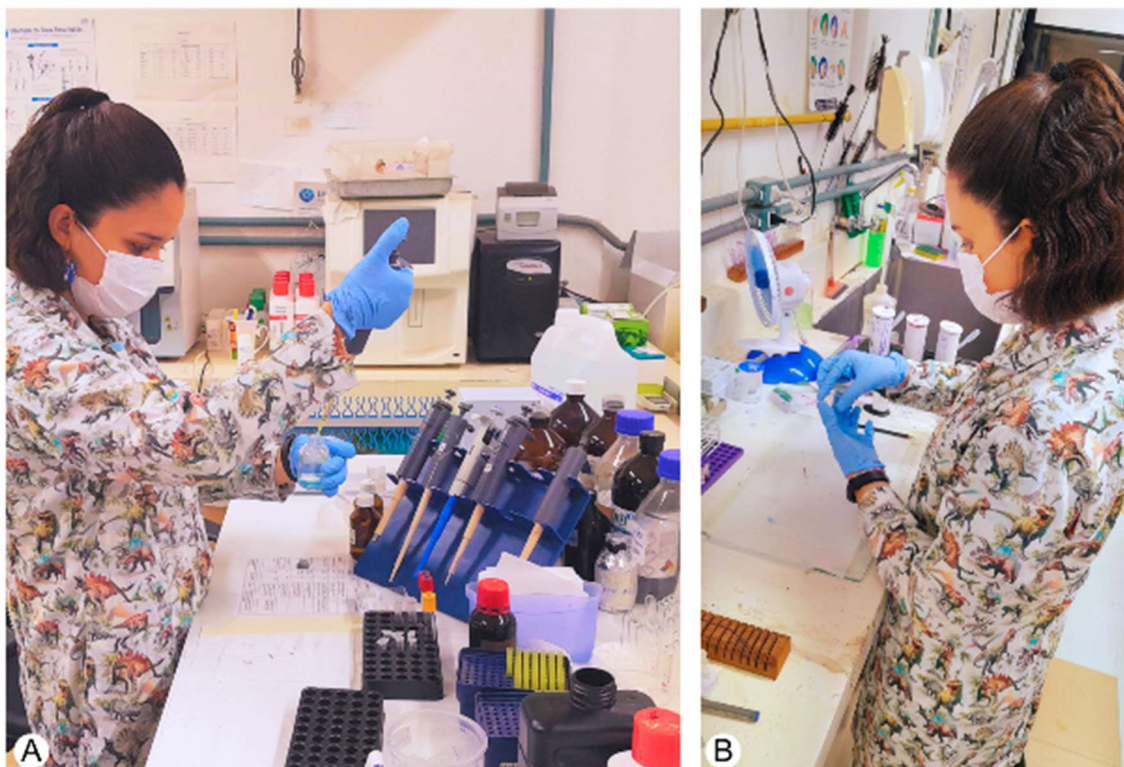


Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Para a realização do hemograma, as amostras de sangue coletadas em tubos contendo EDTA, ou heparina em se tratando de quelônios, eram inicialmente verificadas quanto à presença de coágulos ou fibrina. Tubos com coágulo eram rejeitados e os com fibrina seguiam para processamento específico. Para mamíferos, utilizava-se o analisador hematológico automático, porém, na presença de fibrina, realizava-se diluição (Figura 16) em Hayen e Turk para contagem manual de eritrócitos e leucócitos, respectivamente, em câmara de Neubauer, sem a execução da contagem de plaquetas. Em adição, realizava-se a diluição em reagente de hemoglobina para dosagem em equipamento semiautomático. Para aves, répteis e peixes, era feita diluição em Natt Herick para contagem manual de eritrócitos, leucócitos e trombócitos, além da dosagem de hemoglobina em equipamento semiautomático após centrifugação (3.500 rpm por cinco minutos). Outras diluições incluíam o uso de Novo Azul de Metileno para a contagem de reticulócitos, Brecher para a contagem de plaquetas em mamíferos e solução salina a 0,85% para teste de aglutinação em salina. O material biológico, em seguida, era encaminhado para confecção de

esfregaço e capilar. Esfregaços de mamíferos eram normalmente corados pelo método de panótico rápido, enquanto os de répteis, aves e peixes eram corados pelo método de Rosenfeld, que proporciona melhor visualização dos detalhes morfológicos celulares. A coloração automática em Giemsa também era uma opção disponível. O capilar, após vedado em chama, era centrifugado em centrífuga para microhematócrito por cinco minutos a 12.000 rpm.

Figura 16: Processamento de amostras de sangue para hemograma. (A) Diluição de amostra sanguínea de mamífero com reagente Turk; (B) Confecção de esfregaço sanguíneo.



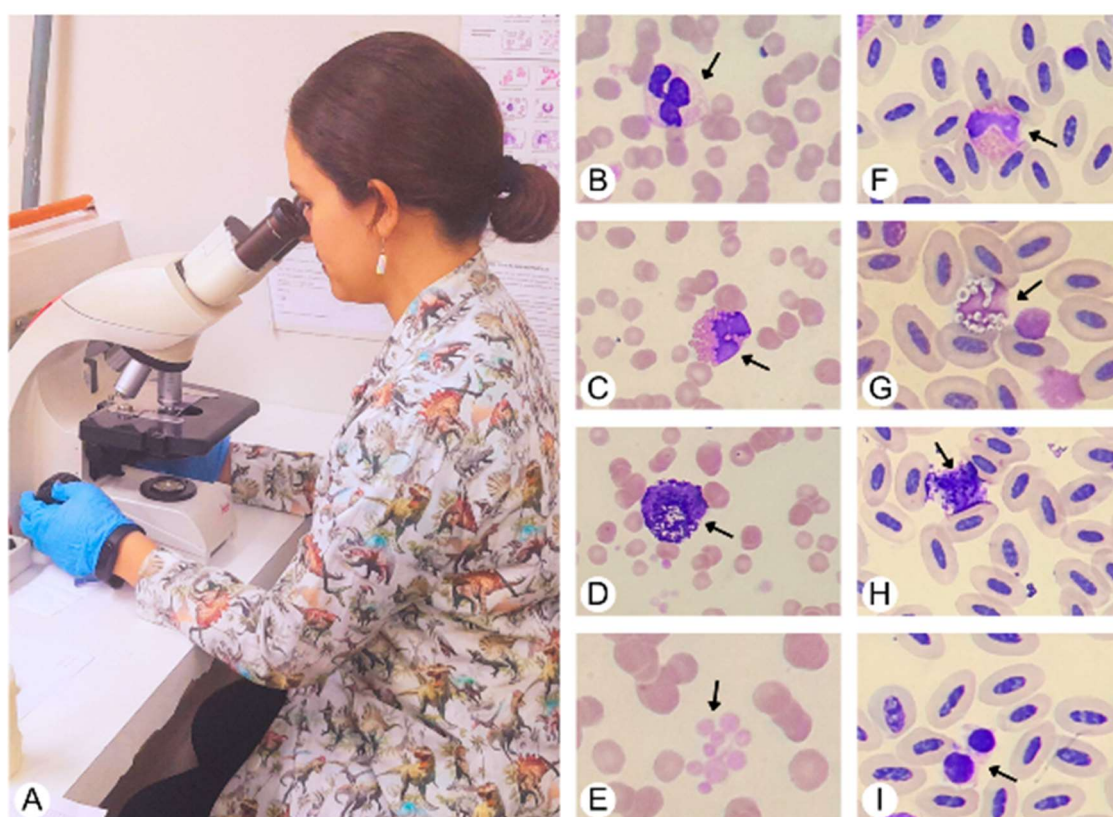
Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Após centrifugação, o capilar era posicionado sobre uma escala graduada específica para leitura do valor do hematócrito. Anotavam-se as características macroscópicas do plasma e realizava-se a quebra manual do capilar para aferição das proteínas plasmáticas em refratômetro. Após secagem, o esfregaço era encaminhado para a análise microscópica.

A análise se iniciava com a objetiva de 10x, realizando-se uma varredura da lâmina para avaliar a distribuição das células e verificar presença de microfilárias. Com a objetiva de 20x, observava-se se havia agregados plaquetários e era estimado se a concentração de leucócitos correspondia ao do analisador automático. Na objetiva de 40x,

confirmava-se a presença de agregados plaquetários, caso visualizados anteriormente, e selecionava-se a área de contagem para o diferencial leucocitário. Por fim, utilizando a objetiva de 100x com o óleo de imersão, realizava-se a contagem diferencial de leucócitos (Figura 17), além da avaliação de possíveis anormalidades morfológicas. Nessa objetiva, os eritrócitos eram avaliados quanto tamanho, forma, coloração e presença de inclusões. Antes de finalizar a análise, procedia-se com a estimativa do número de plaquetas.

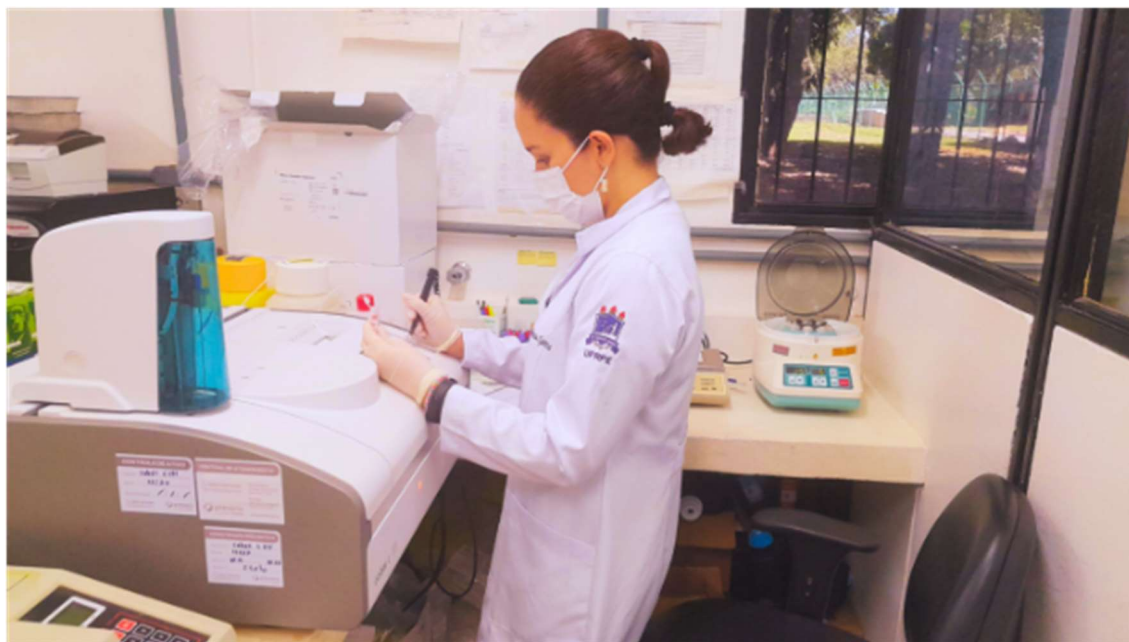
Figura 17: Análise microscópica (hemograma). (A) Avaliação de esfregaço sanguíneo; (B, C, D, E) Setas indicam neutrófilo, eosinófilo, basófilo e plaquetas, respectivamente, de cavalo, corados pelo método de Rosenfeld (aumento de 100×); (F, G, H, I) Setas indicam heterófilo, eosinófilo, basófilo e trombócitos, respectivamente, de papagaio, corados pelo método de Rosenfeld (aumento de 100×).



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Para bioquímica sérica, amostras de sangue em tubos com ativador de coágulo eram encaminhadas para as dosagens dos analitos. Os tubos eram centrifugados a 3.500 rpm por cinco minutos e, em seguida, realizava-se a separação do soro com auxílio de pipeta, que era acondicionado e identificado em microtubo tipo Eppendorf®. Anotavam-se as características do soro, o qual era posteriormente direcionado para equipamentos automáticos (Figura 18) ou semiautomáticos para a dosagem dos analitos solicitados.

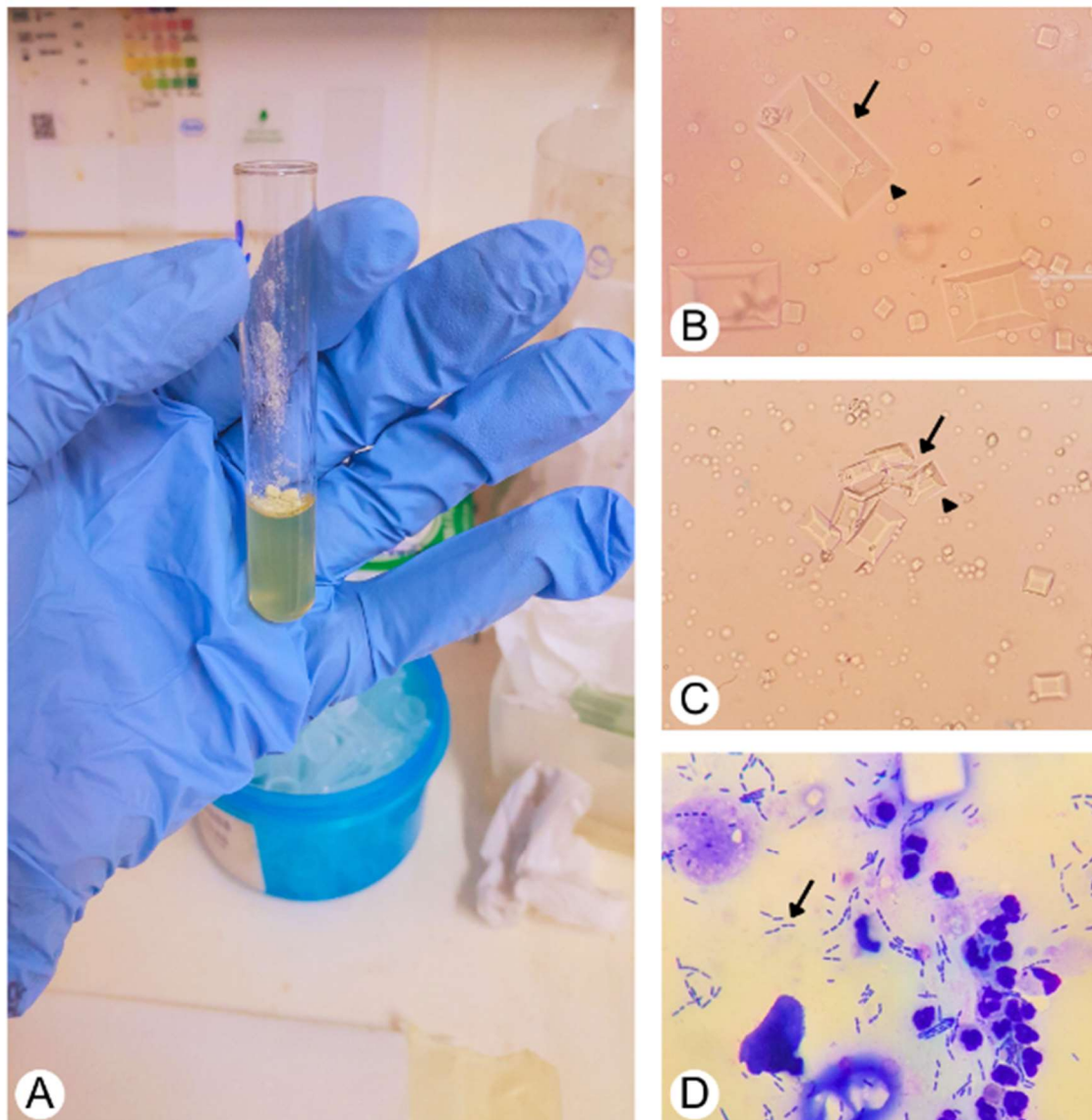
Figura 18: Análise bioquímica em equipamento automático.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Amostras de urina destinadas à urinálise (Figura 19) tinham seu método de coleta e volumes registrados e, em seguida, 5 mL eram depositados em um tubo tipo Falcon®, o qual era encaminhado para centrifugação a 1.500 rpm por cinco minutos. O restante da amostra era colocado em um tubo de ensaio de vidro transparente para a execução dos exames físico e químico. No exame físico, registravam-se cor, aspecto, odor da urina e, por fim, a densidade, aferida com o uso de refratômetro. No exame químico, utilizava-se fita reagente para estimativa de sangue oculto, proteínas, glicose, corpos cetônicos e valor de pH. De forma complementar, para detecção de sais biliares na urina, adicionava-se uma pequena quantidade de pó de enxofre ao tubo de ensaio. Caso o teste fosse positivo, o pó se dispersaria na urina, se negativo, o pó permaneceria na superfície.

Figura 19: Urinálise de cão. (A) Uso de pó de enxofre para detecção de sais biliares (teste negativo); (B e C) Cristais de estruvita (seta) e eritrócitos (ponta de seta) em sedimento urinário (aumento de 40x e 20x, respectivamente); (D) Bactérias em forma de bastão em sedimento urinário, corado pelo método de panótico rápido (aumento de 100x) .



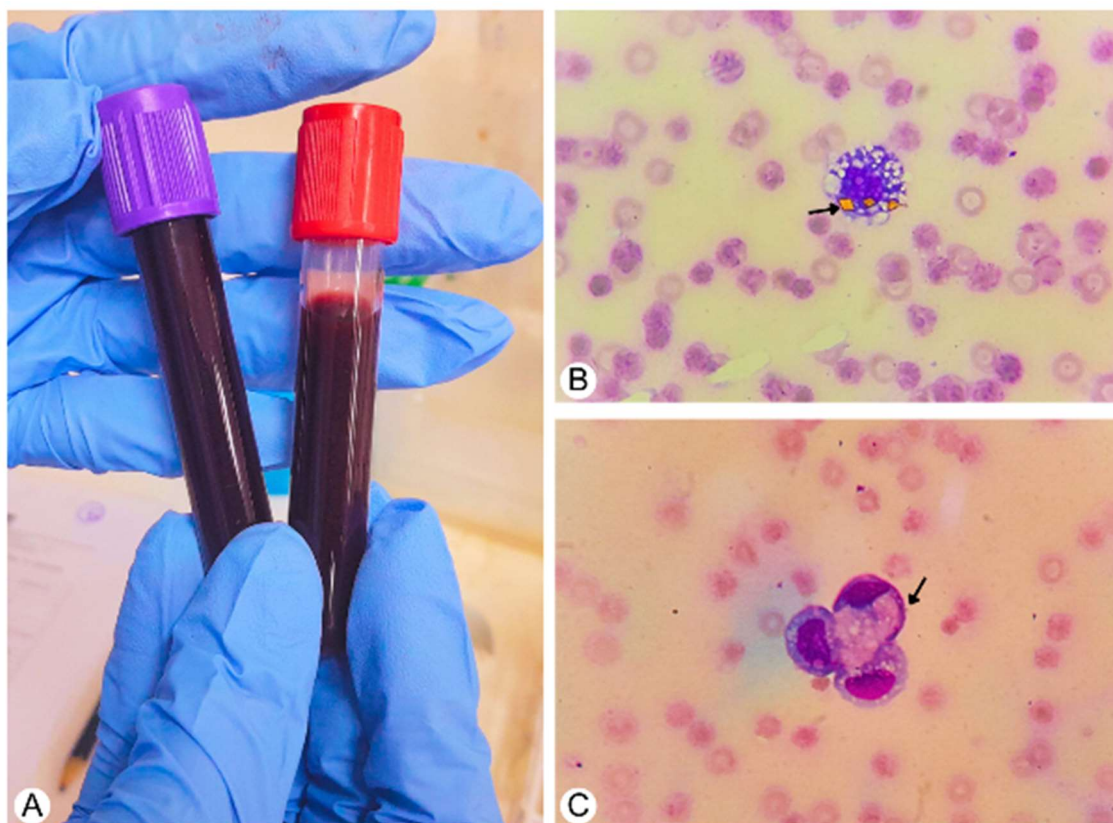
Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Após a centrifugação, uma parte do sobrenadante era separada e identificada em microtubo tipo Eppendorf® para determinação da Relação Proteína/Creatinina urinária (RPC urinária) em analisador bioquímico, quando solicitada pelo clínico. O restante do sobrenadante era descartado, preservando-se 0,5 mL no tubo. O sedimento era ressuspenso, e uma gota era colocada sobre uma lâmina, coberta com lamínula levada ao microscópio. Para a análise, as objetivas de 10x e 20x eram utilizadas para a observação de estruturas maiores, como aglomerados de células, cristais e cilindros. A objetiva de 40x era empregada para confirmar os achados anteriores e para a identificação

de estruturas menores, como leucócitos, eritrócitos e bactérias.

Efusões cavitárias (Figura 20), acondicionadas em tubo com EDTA e em tubo seco ou com ativador de coágulo, eram inicialmente submetidas a exame físico no qual anotavam-se o volume da amostra, cor e aspecto. A amostra no tubo seco ou com ativador de coágulo era utilizada para aferir a densidade, com auxílio de refratômetro, e do pH, por meio de fitas reagentes. Em seguida, essa amostra era centrifugada a 3.500 rpm por cinco minutos e, posteriormente, utilizava-se o sobrenadante para as dosagens de glicose e proteínas em analisador bioquímico. Em adicional, parte do sobrenadante era destinada ao teste de Rivalta, método auxiliar para identificação de processos inflamatórios como a Peritonite Infecciosa Felina (PIF). Para isso, adicionava-se uma gota de ácido acético a 99,8% em 5 mL de água destilada, seguida de uma gota do sobrenadante. Quando positivo, a gota descia lentamente na solução, com aspecto esbranquiçado semelhante a uma “água-viva”, indicando aumento na concentração de proteínas na efusão. Quando negativo, a gota dispersava-se rapidamente na solução.

Figura 20: Efusão cavitária pericárdica hemorrágica de cão. (A) Amostras em tubo com EDTA (esquerda) e com ativador de coágulo (direita); (B) Cristais de hematoidina (seta), corado pelo método de Rosenfeld (aumento de 100x); (C) Eritrofagocitose (seta), corado pelo método de Rosenfeld (aumento de 100x).



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

A amostra da efusão acondicionada no tubo com EDTA era destinada à contagem de eritrócitos e células nucleadas na câmara de Neubauer. Na presença de alta celularidade, eram feitas algumas diluições em solução salina a 0,85% (1:50 ou 1:100). Para execução do exame citológico e contagem diferencial, confeccionavam-se esfregaços e botão citológico, este obtido após centrifugação da amostra diluída em solução salina em centrífuga citológica a 1.500 rpm por cinco minutos. As lâminas eram comumente coradas pela técnica de Rosenfeld.

Vale ressaltar que amostras de líquido eram submetidas a processamento semelhante, entretanto, em virtude do reduzido volume disponível para análise, eram estabelecidas algumas prioridades no processamento. Prezava-se, primeiramente, pela contagem celular em câmara de Neubauer, seguida da análise bioquímica e do diferencial celular, após confecção de botão citológico e coloração pelo método de Rosenfeld. Posteriormente, aferiam-se a densidade e o pH. Por fim, procedia-se com o teste de Pandy, utilizado como triagem para detectar aumento na concentração de proteínas, mediante adição de 1 gota da amostra a 1 gota da solução de Pandy. Resultados positivos eram indicados quando a mistura ficava esbranquiçada, já resultados negativos permaneciam incolores.

O teste de compatibilidade sanguínea também era um exame comumente realizado na rotina das análises clínicas do laboratório. As amostras do receptor eram recebidas em tubos com e sem EDTA, enquanto as amostras dos doadores, na maior parte provenientes de bolsas de sangue do banco de sangue do HVET, chegavam em tubos contendo EDTA. Todas as bolsas utilizadas tinham o hematócrito aferido antes de seu uso e seus doadores previamente testados quanto a sua higidez imunológica e presença de agentes infecciosos. As amostras eram centrifugadas a 1.500 rpm por cinco minutos e o plasma do doador e receptor, assim como o soro do receptor, eram separados e identificados em microtubos tipo Eppendorf®. Posteriormente, adicionava-se solução salina a 0,85% aos tubos com EDTA para lavar os eritrócitos do receptor e do doador, objetivando retirar resíduos de plasma e proteínas que poderiam interferir no teste. Os tubos eram centrifugados novamente, o sobrenadante descartado e o processo de lavagem repetido por mais duas vezes. Após a última lavagem, confeccionavam-se suspensões de sangue total, conhecidas como “papa de hemácias”, para o doador e receptor, utilizando-se 2,4 mL de solução salina e 100 µL dos eritrócitos lavados, proporcionando uma densidade adequada de eritrócitos para facilitar a identificação de hemoaglutinação. Após essa etapa, procedia-se com a realização das provas com auxílio de microtubos tipo

Eppendorf® previamente identificados:

- Controle do receptor: mistura de 100 µL do soro do receptor com 50 µL da papa de hemácias do receptor.
- Controle do doador: mistura de 100 µL do plasma do doador com 50 µL da papa de hemácias do doador.
- Prova cruzada principal: mistura de 100 µL do soro do receptor com 50 µL da papa de hemácias do doador.
- Prova cruzada secundária: mistura de 100 µL do plasma do doador com 50 µL da papa de hemácias do receptor.

As misturas contidas nos microtubos tipo Eppendorf eram colocadas em banho-maria a 37°C por vinte minutos. Em seguida, uma gota de cada prova era transferida para uma lâmina de vidro, coberta com lamínula e levada ao microscópio. Procedia-se à observação da presença ou ausência de hemoaglutinação, de modo que o receptor era dado como compatível com o doador quando não havia aglutinação visível em nenhuma das quatro provas realizadas.

Ressalta-se, ainda, que, em se tratando de solicitação para execução de mielograma, os residentes se deslocavam para o ambulatório, acompanhavam a coleta junto ao clínico e preparavam as lâminas com o material coletado. Em seguida, realizava-se coloração automática em Giemsa e o material era analisado e laudado pela professora responsável.

3.3 Casuística

Durante o período do estágio no LPCV-UnB foram processadas amostras de 975 animais abrangendo diferentes espécies de mamíferos, aves, répteis e peixes (Tabela 4). Foram realizados 1.954 exames (Tabela 5) sendo o hemograma o exame mais frequentemente executado no laboratório (833/1.954), seguido da bioquímica sérica (794/1.954), urinálise (127/1.954), contagem de reticulócitos (86/1.954), relação proteína:creatinina urinária (81/1.954), teste de compatibilidade sanguínea (14/1.954), análise de líquidos pleural, peritoneal e pericárdico (12/1.954), análise de líquido cefalorraquidiano (4/1.954) e mielograma (3/1.954).

Tabela 4: Número de animais cujas amostras foram processadas no LPCV-UnB no período do estágio.

Animais	Quantidade
Cão (<i>Canis lupus familiaris</i>)	614
Gato (<i>Felis silvestris catus</i>)	250
Papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>)	37
Coelho-do-mato (<i>Sylvilagus brasiliensis</i>)	14
Cavalo (<i>Equus caballus</i>)	7
Sagui-de-tufo-branco (<i>Callithrix jacchus</i>)	7
Calopsita (<i>Nymphicus hollandicus</i>)	7
Porquinho-da-Índia (<i>Cavia porcellus</i>)	5
Ovelha (<i>Ovis aries</i>)	5
Gambá-de-orelha-branca (<i>Didelphis albiventris</i>)	3
Pombo-comum (<i>Columba livia</i>)	3
Cascavel-sul-americana (<i>Crotalus durissus</i>)	3
Macaco-prego (<i>Sapajus apella</i>)	2
Galinha (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	2
Cabra (<i>Capra aegagrus hircus</i>)	2
Jiboia (<i>Boa constrictor</i>)	2
Jabuti-piranga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	2
Tamanduá-mirim (<i>Tamandua tetradactyla</i>)	1
Onça-pintada (<i>Panthera onca</i>)	1
Jaguaririca (<i>Leopardus pardalis</i>)	1
Lobo-guará (<i>Chrysocyon brachyurus</i>)	1
Maria-faceira (<i>Syngnathus sibilatrix</i>)	1
Quero-quero (<i>Vanellus chilensis</i>)	1
Coruja-buraqueira (<i>Athene cunicularia</i>)	1
Periquito-australiano (<i>Melopsittacus undulatus</i>)	1
Arara-azul-grande (<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i>)	1
Carpa Koi (<i>Cyprinus rubrofuscus</i>)	1
Total	975

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Tabela 5: Número de exames realizados no LPCV-UnB no período do estágio.

Exames realizados	Quantidade
Hemograma	833
Bioquímica Sérica	794
Urinálise	127
Contagem de Reticulócitos	86
Relação Proteína: Creatinina Urinária	81
Teste de Compatibilidade Sanguínea	14
Análise de líquidos pleural, peritoneal, pericárdico	12
Análise de líquido cefalorraquidiano	4
Mielograma	3
Total	1.954

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Estágio Supervisionado Obrigatório representou uma etapa fundamental para o desenvolvimento de habilidades práticas e para a consolidação dos conteúdos teóricos adquiridos na graduação.

A realização do estágio em duas áreas distintas e laboratórios diferentes proporcionou experiências diversificadas e enriquecedoras. No Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LDIC-UFRPE), atuando nos segmentos da bacteriologia e micologia, foi possível desenvolver habilidades em técnicas e procedimentos específicos, ampliando a vivência prática e afinidade com o campo da medicina preventiva. No Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade de Brasília (LPCV-UnB), a oportunidade atuar em outra instituição, possibilitou acompanhar uma rotina laboratorial diversificada, conhecer novos profissionais, vivenciar diferentes metodologias, atender uma variedade de espécies e aprender a manusear equipamentos distintos, o que contribuiu para aprofundar os conhecimentos e fortalecer o envolvimento com a patologia clínica.

Diante disso, as duas experiências proporcionaram não apenas a aprendizagem em áreas distintas da Medicina Veterinária, mas também uma ampliação significativa dos conhecimentos em práticas laboratoriais. Esse conjunto de vivências contribuiu de maneira expressiva para uma atuação profissional futura na área do diagnóstico laboratorial.

**CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ERITROCITÁRIA EM
CÃES: A IMPORTÂNCIA DA CONTAGEM ABSOLUTA DE
RETICULÓCITOS COMPARADA À ANÁLISE SUBJETIVA DE
PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS CONVENCIONAIS**

RESUMO

A avaliação da resposta da medula óssea quanto a regeneração eritrocitária é fundamental para a caracterização da anemia e condução clínica. Embora a contagem absoluta de reticulócitos seja considerada um exame padrão-ouro para verificar a atividade eritropoiética, frequentemente os achados do eritrograma, como as observações microscópicas do esfregaço sanguíneo e índices hematimétricos, têm sido utilizados como alternativa, provavelmente para reduzir custos no atendimento. Este estudo objetivou demonstrar a importância da contagem absoluta de reticulócitos, comparando sua aplicação na identificação da resposta eritrocitária em cães com o uso de parâmetros hematológicos do eritrograma convencionalmente utilizados na rotina da clínica veterinária para interpretação das anemias. Foi feito um estudo retrospectivo com 100 hemogramas de cães anêmicos, analisando-se a contagem absoluta de reticulócitos, e os achados sugestivos de regeneração presentes no eritrograma (anisocitose, policromasia, eritrócitos nucleados, corpúsculos de Howell-Jolly, macrocitose e hipocromia). As anemias foram classificadas quanto à regeneração e intensidade, segundo o método padrão-ouro, e, para as análises comparativas, investigou-se a frequência de casos de anemia regenerativa e não regenerativa em relação aos diferentes tipos e quantidades de achados presentes no eritrograma. Adicionalmente, considerando a quantidade desses achados como possível indicativo de resposta medular, foram calculadas a sensibilidade, especificidade, acurácia e Kappa da classificação obtida, tendo como referência a contagem absoluta de reticulócitos. Constatou-se que a anisocitose foi o achado mais frequente em ambas anemias regenerativa e não regenerativa, enquanto a policromasia demonstrou maior potencial de distinção. Um maior número de casos de anemia não regenerativa apresentou apenas um ou dois dos achados hematológicos descritos no estudo, enquanto que um maior número de casos de anemia regenerativa apresentou três ou quatro. Os índices de sensibilidade, especificidade, acurácia e Kappa demonstraram que a interpretação da resposta medular baseada na quantidade de parâmetros hematológicos presentes no eritrograma possui capacidade discriminativa limitada frente ao padrão-ouro. Conclui-se que a contagem absoluta de reticulócitos permanece o método mais confiável para a classificação da regeneração eritrocitária em cães, sendo os achados do esfregaço sanguíneo e índices hematimétricos ferramentas complementares indispensáveis para a interpretação integrada dos quadros anêmicos.

Palavras-chave: canino; hemograma; anemia.

ABSTRACT

The evaluation of bone marrow response regarding erythrocyte regeneration is essential for characterizing anemia and guiding clinical management. Although the absolute reticulocyte count is considered the gold standard test for assessing erythropoietic activity, findings from the erythrogram, such as microscopic observations of the blood smear and hematimetric indices, are frequently used as an alternative, probably to reduce costs in clinical care. This study aimed to demonstrate the importance of the absolute reticulocyte count by comparing its application in identifying the erythrocytic response in dogs with the use of hematological parameters from the erythrogram conventionally employed in routine veterinary clinical practice for anemia interpretation. A retrospective study was carried out with 100 hemograms from anemic dogs, analyzing the absolute reticulocyte count and the regeneration-suggestive findings present in the erythrogram (anisocytosis, polychromasia, nucleated erythrocytes, Howell-Jolly bodies, macrocytosis, and hypochromia). Anemias were classified according to regeneration and its intensity, following the gold standard method, and for comparative analyses, the frequency of regenerative and non-regenerative anemia cases was investigated in relation to the different types and quantities of findings present in the erythrogram. Additionally, considering the number of these findings as a possible indicator of medullary response, sensitivity, specificity, accuracy, and Kappa coefficient of the obtained classification were calculated, using the absolute reticulocyte count as the reference. It was found that anisocytosis was the most frequent finding in both regenerative and non-regenerative anemias, while polychromasia showed greater discriminatory potential. A larger number of non-regenerative anemia cases exhibited only one or two of the hematological findings described in the study, whereas a greater number of regenerative anemia cases presented three or four. The sensitivity, specificity, accuracy, and Kappa indices demonstrated that interpreting medullary response based on the number of hematological parameters present in the erythrogram has limited discriminatory capacity when compared to the gold standard. It is concluded that the absolute reticulocyte count remains the most reliable method for classifying erythrocyte regeneration in dogs, with blood smear findings and hematimetric indices being indispensable complementary tools for the integrated interpretation of anemic cases.

Keywords: canine; hemogram; anemia.

1 INTRODUÇÃO

A anemia é um dos distúrbios hematológicos mais frequentes na clínica veterinária (Stokol, 2016). Sendo um estado patológico inespecífico e com diferentes etiologias, não somente sua identificação se torna importante, mas também sua classificação. Uma das classificações baseia-se na resposta da medula óssea, sendo a regeneração eritrocitária identificada pelo aumento na quantidade de eritrócitos anucleados imaturos na circulação, o que evidencia uma eritropoiese ativa para o processo de hipóxia apresentado (Tvedten, 2022). Essa classificação é uma das mais úteis, pois funciona como importante ferramenta para que o médico veterinário construa um raciocínio clínico voltado à causa do processo, além de auxiliar na definição do prognóstico e no tratamento do paciente (Thrall *et al.*, 2014; Bello *et al.*, 2018).

Os índices hematimétricos do Volume Corpuscular Médio (VCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) são parâmetros hematológicos do eritrograma que podem sugerir a presença de regeneração. As anemias macrocíticas hipocrômicas são as mais comumente associadas à regeneração, pois o VCM alto e CHCM baixo sugerem presença de eritrócitos imaturos na circulação (Mendonça, 2019). Anemias normocíticas hipocrômicas também podem sugerir processo regenerativo, nos casos em que há células imaturas na circulação mas que não estão em quantidade suficiente para aumentar o VCM, entretanto, são incomuns (Stockham e Scott, 2011).

Elementos eritrocitários observados à microscopia, como eritrócitos nucleados, anisocitose, policromasia e corpúsculos de Howell-Jolly também são indicativos de imaturidade eritrocitária e, assim como os índices hematimétricos, podem contribuir para a análise da resposta eritropoiética, por sugerirem um processo regenerativo (Stockham e Scott, 2011, Hodges e Christopher, 2011; Medeiros e Dittrich 2014; Woolhead *et al.*, 2020).

Embora esses parâmetros sejam convencionalmente utilizados na interpretação das anemias quanto à regeneração, sua presença não implica, necessariamente, em eritropoiese ativa frente ao quadro de hipóxia. Nesse contexto, a contagem de reticulócitos é o parâmetro mais confiável para interpretação das anemias, pois avalia de forma direta e objetiva a resposta eritropoiética da medula óssea, evidenciada pela reticulocitose (Stockham e Scott, 2011).

Os reticulócitos são células imaturas, anucleadas e possuem RNA citoplasmático

corável, representando a fase de maturação eritrocitária subsequente à expulsão do núcleo do metarrubricito (Stockham e Scott, 2011). À microscopia, são caracterizados pelo aspecto adquirido após coloração com corantes supravitais, como o novo azul de metileno ou azul de cresil brilhante, que configuram agregações nas organelas residuais, visíveis como dois ou mais grânulos azulados (Araújo *et al.*, 2015). Essas agregações recebem o nome de retículos, originando a denominação da célula (Thrall *et al.*, 2014). Sua produção ocorre aproximadamente 3-4 dias após a eritropoietina estimular a medula óssea em resposta a um quadro de hipóxia (Stockham e Scott, 2011), atingindo um pico cerca de 4-8 dias após o estabelecimento da anemia (Tvedten, 2022).

O exame da contagem de reticulócitos permite avaliar a integridade funcional da medula óssea (Araújo *et al.*, 2015) e, além de confirmar a presença de regeneração eritrocitária, possibilita verificar, através do grau de reticulocitose, se a intensidade dessa regeneração é compatível com a severidade da anemia (Tvedten, 2022). Em espécies como os cães, que tem maior capacidade de liberar eritrócitos anucleados imaturos em resposta à anemia, essa análise torna-se especialmente útil na interpretação do quadro anêmico (Mendonça, 2019).

Destaca-se, ainda, que a contagem absoluta dos reticulócitos é considerada padrão-ouro para interpretação da regeneração em detrimento da porcentagem de reticulócitos. Isso porque, uma vez que a porcentagem é dada pela relação entre os reticulócitos observados à microscopia e o total de eritrócitos maduros na corrente sanguínea, esse valor pode estar falsamente aumentado a depender da severidade da anemia (Tvedten, 2022).

Ressalta-se, porém, que apesar de grande relevância para interpretação das anemias e do baixo custo de execução para o laboratório (Drumond, 2013), o exame de contagem de reticulócitos representa uma despesa adicional para os tutores e pode ser pouco solicitado pelo médico veterinário, possivelmente em razão de outros exames de rotina considerados preferenciais, como os de imagem, bioquímicos e o próprio hemograma (D'avila, 2011).

Assim, no intuito de minimizar os custos no atendimento, muitos médicos veterinários se baseiam exclusivamente nos índices hematimétricos e observações microscópicas do esfregaço sanguíneo indicados no eritrograma para apoiar suas suspeitas de uma resposta regenerativa para o quadro anêmico do paciente, ao invés de recorrerem também ao exame padrão-ouro para verificação da regeneração, bem como sua intensidade (D'avila, 2011). Dessa forma, essa prática pode comprometer o processo

de resolução da anemia do paciente, tornando-se uma conduta prejudicial para o animal. Diante desse contexto, objetivou-se com este trabalho demonstrar a importância da contagem absoluta de reticulócitos, comparando sua aplicação na identificação da resposta eritrocitária em cães com o uso de parâmetros hematológicos do eritrograma convencionalmente utilizados na rotina da clínica veterinária para interpretação das anemias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo, analisando-se o segmento do eritrograma de 100 laudos de hemogramas de cães, contendo contagem de reticulócitos, executados no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LPCV), de animais atendidos no Hospital Veterinário Universitário (HVU) do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Todos os laudos, sem restrição quanto ao sexo, idade ou raça, englobavam apenas animais anêmicos, isto é, que apresentavam valores de contagem total de eritrócitos abaixo de $5,5 \times 10^6$ (/mm³), concentração de hemoglobina abaixo de 12,0 (g/dL) e/ou valores de hematócrito abaixo de 37,0 (%) (Stockham e Scott, 2011).

Com relação a contagem absoluta de reticulócitos, método considerado padrão-ouro, as anemias foram classificadas como regenerativas quando apresentaram mais de 60.000 reticulócitos/ μ L (Tvedten, 2022). Quanto a intensidade de regeneração medular, foram classificadas em pouco regenerativas (entre 60.000 e 150.000 reticulócitos/ μ L), moderadamente regenerativas (entre 150.000 e 300.000 reticulócitos/ μ L) e muito regenerativas (entre 300.000 e 500.000 reticulócitos/ μ L) (Tvedten, 2022).

No que concerne aos parâmetros hematológicos presentes no eritrograma, consideraram-se como achados sugestivos de regeneração os elementos observados no esfregaço sanguíneo (anisocitose, policromasia, eritrócitos nucleados e corpúsculos de Howell-Jolly) e índices de VCM e CHCM quando apontavam macrocitose e hipocromia concomitantes (Woolhead *et al.*, 2020). Os achados foram avaliados quanto à presença ou ausência, independentemente da intensidade.

Para as análises comparativas, investigou-se a frequência de casos de anemia regenerativa (> 60.000 reticulócitos/ μ L) e não regenerativa em relação aos diferentes tipos e quantidades de achados presentes no eritrograma.

Em adição, considerando a quantidade desses achados eritrocitários como possível indicativo de resposta regenerativa da medula óssea, foram calculados os índices de desempenho diagnóstico, sensibilidade, especificidade, acurácia e Kappa, tendo como referência a contagem absoluta de reticulócitos. Para os cálculos, foram estabelecidos diferentes agrupamentos, representando situações distintas, com critérios progressivamente mais exigentes quanto ao número mínimo de achados necessários para classificar a anemia como regenerativa: G1 (presença de 1 a 5 achados), G2 (2 a 5 achados), G3 (3 a 5 achados), G4 (4 a 5 achados) e G5 (todos os 5 achados).

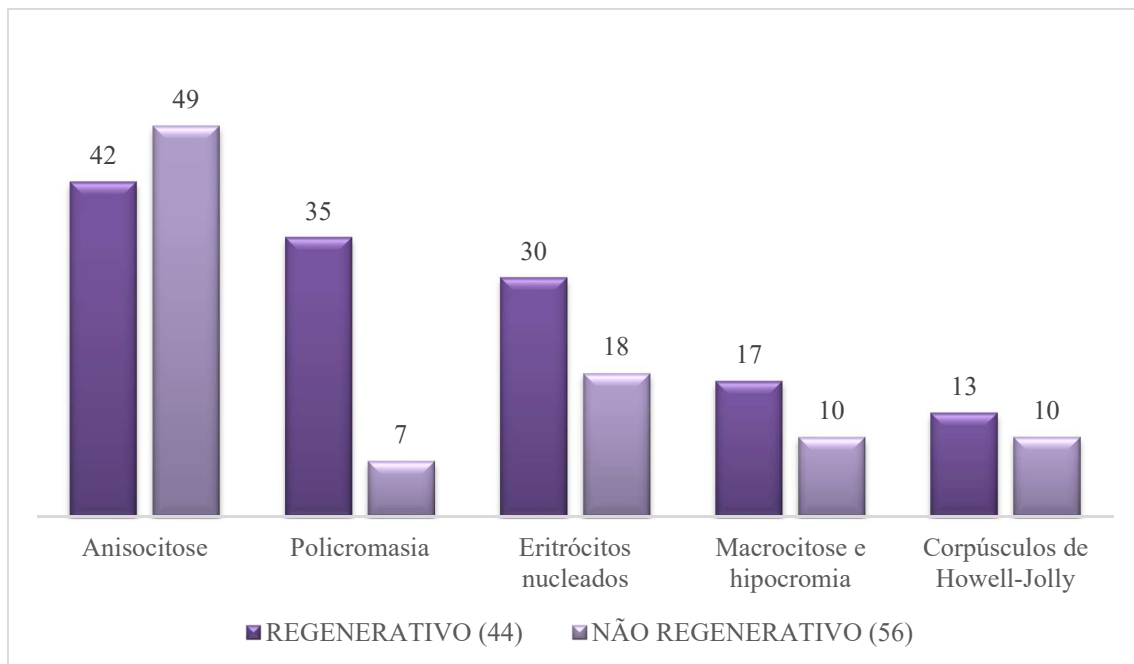
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a contagem absoluta de reticulócitos, as anemias regenerativas foram constatadas em 44 casos e as não regenerativas em 56. De fato, a anemia não regenerativa tem sido relatada como a forma mais prevalente em cães (Espada, 2024). Na maioria das vezes, a redução da eritrogênese ocorre como consequência de processos patológicos extramedulares, como doença renal crônica, hipotireoidismo, doenças inflamatórias ou infecciosas (Pacheco, 2017). A anemia regenerativa, por sua vez, que pode ocorrer em consequência de perda de eritrócitos (hemorragia) ou de lise eritrocitária (hemólise) (Tvedten, 2022), tem como principais causas, no primeiro caso, traumatismos, neoplasias intestinais, alterações hemostáticas e coagulopatias. Já no segundo caso, destacam-se como causas mais frequentes os agentes infecciosos, processos imunomediados e lesões oxidativas (Pacheco, 2017).

No que concerne às anemias regenerativas, observou-se que 24/44 eram pouco regenerativas, 16/44 eram moderadamente regenerativas e 4/44 eram muito regenerativas. Tvedten (2022) salienta que a intensidade de regeneração tende a variar conforme o mecanismo envolvido, sendo as anemias hemolíticas, na maioria das vezes, mais regenerativas, uma vez que, a medula óssea, permanecendo funcional e com substratos disponíveis, responde rapidamente ao estímulo eritropoiético induzido pela lise eritrocitária.

Com relação aos achados sugestivos de regeneração (Figura 1), verificou-se que, dentre as anemias regenerativas, a anisocitose foi o achado mais frequente (42/44), seguido da policromasia (35/44), eritrócitos nucleados (30/44), macrocitose e hipocromia (17/44) e corpúsculos de Howell-Jolly (13/44). Dentre as anemias não regenerativas, a anisocitose foi o achado mais frequente (49/56), seguido de eritrócitos nucleados (18/56), corpúsculos de Howell-Jolly (10/56), macrocitose e hipocromia (10/56) e policromasia (7/56).

Figura 1: Frequência dos tipos de achados sugestivos de regeneração observados entre os casos de anemia regenerativa e não regenerativa, considerando a contagem absoluta de reticulócitos.



Fonte: Elaborado pela autora (2025)

Em ambos os tipos de anemia, a anisocitose foi o achado mais frequente, demonstrando ser um indicativo não característico para sugestão de regeneração. Bain (2017) ressalta que, de fato, a anisocitose é uma característica comum e pouco específica, observada em praticamente todos os distúrbios hematológicos. Observou-se, ainda, que a policromasia foi o segundo achado mais frequente entre as anemias regenerativas e o menos frequente dentre as não regenerativas. Medeiros e Dittrich (2014) observaram correlação elevada entre a policromasia e a contagem absoluta de reticulócitos, reconhecendo esse parâmetro como significativo na diferenciação das anemias regenerativas das não regenerativas. No entanto, os autores também destacam que a contagem de policromatófilos isoladamente não permite inferir com exatidão o número de reticulócitos presentes e, portanto, não possibilita averiguar corretamente a intensidade da regeneração eritrocitária. Assim, embora a policromasia seja tipicamente considerada um indicativo de atividade medular regenerativa, sua presença isolada não é suficiente para estimar corretamente o grau de reticulocitose que o animal apresenta e se este será o bastante para combater a anemia em sua severidade.

Na Tabela 1 é demonstrada a distribuição dos casos de anemia regenerativa e não regenerativa, conforme a quantidade de achados sugestivos de regeneração identificados no eritrograma dos laudos.

Tabela 1: Número de casos de anemia regenerativa e não regenerativa, considerando a contagem absoluta de reticulócitos, distribuídos de acordo com o quantitativo de achados sugestivos de regeneração identificados no eritrograma.

Classificação da Anemia	Quantidade de Achados Sugestivos de Regeneração						Total
	0	1	2	3	4	5	
Regenerativa	2	2	7	13	18	2	44
Não Regenerativa	5	27	14	3	5	2	56
Total	7	29	21	16	23	4	100

Fonte: Elaborado pela autora (2025)

Constatou-se que, entre as anemias não regenerativas, uma parcela majoritária de casos apresentou apenas um ou dois dos achados avaliados no estudo (41/56) enquanto nas anemias regenerativas, prevaleceram casos com três ou quatro (31/44). Dentre estes, 14/24 eram anemias pouco regenerativas, 14/16 eram moderadamente regenerativas e 3/4 eram muito regenerativas, indicando que, apesar das diferentes proporções, a maior parte dos casos se manteve na mesma faixa de quantidade de achados, independentemente da intensidade de regeneração. Ressalta-se, ainda, que dois casos regenerativos não apresentaram nenhum dos achados estudados, ao passo que dois casos sem regeneração apresentaram todos os cinco.

Considerando que a literatura não estabelece de forma explícita se há uma quantidade de elementos observados no eritrograma que seria mais sugestiva de resposta medular, torna-se plausível admitir, no julgamento clínico, que quanto maior o número de achados indicativos de regeneração, maior a probabilidade de a anemia ser regenerativa. Entretanto, vale ressaltar que, embora uma frequência mais elevada de casos entre as anemias regenerativas tenha sido associada a um alto número de achados sugestivos de regeneração, essa correspondência não se mostrou absoluta, uma vez que também foram observados casos de anemias não regenerativas com altas quantidades desses elementos eritrocitários. Nesse contexto, os resultados de sensibilidade, especificidade, acurácia e Kappa (Tabela 2) possibilitaram avaliar a qualidade do desempenho diagnóstico do uso do número de achados sugestivos de regeneração, observados no eritrograma, na identificação de anemias regenerativas em cães, tendo como referência a contagem absoluta de reticulócitos, considerada padrão-ouro.

Tabela 2: Sensibilidade, especificidade, acurácia e Kappa do uso do número de achados sugestivos de regeneração agrupados em diferentes critérios para classificar as anemias como regenerativas, tendo como referência a contagem absoluta de reticulócitos.

Grupos	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	Kappa
G1	95,45%	8,92%	47%	0,04
G2	90,90%	57,14%	72%	0,46
G3	75%	82,14%	79%	0,57
G4	45,45%	87,5%	69%	0,34
G5	4,54%	96,42%	56%	0,01

Legenda: G1 (presença de 1 a 5 achados); G2 (presença de 2 a 5 achados); G3 (presença de 3 a 5 achados); G4 (presença de 4 a 5 achados); G5 (todos os 5 achados).

Fonte: Elaborado pela autora (2025)

Verificou-se, com o estabelecimento de distintos agrupamentos, à medida que se exige um número maior de achados no eritrograma para se considerar presença de regeneração, eleva-se a especificidade e reduz-se a sensibilidade na qualidade do diagnóstico. Segundo Neves *et al.* (2003) quando é importante evitar resultados falso-positivos, deve-se priorizar uma alta especificidade. Tal fato é particularmente relevante em pacientes anêmicos, a fim de não se diagnosticar equivocadamente uma resposta medular regenerativa inexistente.

Entretanto, para ter validade na aplicação prática, uma análise diagnóstica não deve contar apenas com uma alta especificidade. É preciso que ela discrimine corretamente e conjuntamente tanto a presença quanto a ausência de regeneração medular em cães anêmicos, mantendo, assim, um equilíbrio adequado com a sensibilidade e refletindo um valor de acurácia de, pelo menos, 80% (Reis e Reis, 2002; Sopelete, 2005; Oliveira *et al.*, 2010; Medeiros e Dittrich, 2014; Ferreira e Patino, 2018).

Sendo a acurácia a probabilidade de a análise fornecer resultados corretos, observou-se que os critérios empregados nos grupos G1 e G5 apresentaram valores próximos de 50%, indicando uma capacidade de identificar regeneração eritrocitária equivalente à de uma decisão aleatória (Forte e Mariani, 2011). Por outro lado, os critérios dos grupos G2, G3 e G4 obtiveram resultados superiores a esse desempenho randômico, destacando-se o G3, com presença de três a cinco achados sugestivos de regeneração, que, apresentando acurácia de 79%, demonstrou o melhor equilíbrio entre sensibilidade e especificidade.

Considerando a classificação de Kappa para determinação da confiabilidade da análise como pobre ($\kappa \leq 0,20$), regular ($0,20 < \kappa \leq 0,40$), moderada ($0,40 < \kappa \leq 0,60$), boa

($0,60 < \kappa \leq 0,80$) e excelente ($0,80 < \kappa \leq 1,0$) (Pereira, 2002; Sopelete, 2005), observou-se que nenhum dos grupos estabelecidos entregou uma concordância com o teste padrão-ouro acima de um índice de confiabilidade considerado moderado. Ao corrigir os acertos provenientes de concordâncias ao acaso, esse índice permite expressar se uma análise realmente tem poder de distinção entre as condições avaliadas, caracterizando-a, assim, como uma ferramenta útil no diagnóstico (Pereira, 2002; Sopelete, 2005; Pykes, 2025). Nesse sentido, mesmo apresentando a maior acurácia diante dos demais, a obtenção de um Kappa 0,57 sugere que o G3 teve parte dos seus acertos oriundos de concordâncias ocasionais, sem refletir necessariamente uma análise consistente frente ao teste padrão-ouro.

Pereira (2002) salienta que o diagnóstico clínico é um processo inerentemente subjetivo e passível de interpretações discordantes e, por isso, raramente obtém-se o nível de uniformidade encontrado em diagnósticos de testes laboratoriais. Nessa perspectiva, os resultados obtidos reforçam que a classificação das anemias quanto a resposta medular baseada exclusivamente na quantidade de achados eritrocitários sugestivos de regeneração, apresenta uma capacidade discriminativa limitada e sujeita a variação, comprometendo a aplicabilidade desse método como ferramenta isolada na determinação de regeneração das anemias.

Ressalta-se, ainda, que a heterogeneidade na distribuição de casos de anemia regenerativa e não regenerativa, conforme a quantidade de achados eritrocitários, possivelmente não está relacionada apenas ao tipo de resposta medular. Esses achados, isoladamente ou em conjunto, podem refletir distintas circunstâncias clínicas, influenciadas por fatores como tempo de evolução e etiologia da anemia, reservas limitadas ou lesões medulares, alterações na função de macrófagos do baço, sequestro esplênico, velocidade de destruição periférica dos eritrócitos e tempo de trânsito celular (Stockham e Scott 2011).

Considerando as limitações observadas no uso isolado dos achados presentes no eritrograma, a contagem absoluta de reticulócitos destaca-se como a ferramenta mais segura e confiável para determinar a atividade eritrocitária regenerativa. Tvedten (2022) enfatiza que a correta classificação quanto à regeneração é fundamental para direcionar o raciocínio diagnóstico ao mecanismo fisiopatológico predominante na manifestação da anemia. A partir da identificação desse mecanismo, torna-se possível conduzir o paciente para investigações complementares específicas como exames de imagem, para localização de focos hemorrágicos nas anemias hemorrágicas, avaliação criteriosa do

esfregaço sanguíneo, que pode revelar achados sugestivos da causa da lise eritrocitária nas anemias hemolíticas, e análise do aspirado de medula óssea, essencial para esclarecer mecanismos de inibição da eritropoiese nas anemias por depressão medular. Dessa maneira, a correta classificação inicial permite a elucidação adequada da causa primária envolvida no processo anêmico e possibilita a instituição de uma conduta terapêutica direcionada e eficaz.

Adicionalmente, convém destacar que os achados identificados no eritrograma revelam-se como informações valiosas acerca das condições clínicas e hematológicas do paciente. Segundo Tvedten (2022), muitos diagnósticos podem ser inevitavelmente perdidos sem a avaliação minuciosa do esfregaço sanguíneo, e diversas observações, fundamentais para a definição diagnóstica, só podem ser realizadas por um patologista clínico experiente ao microscópio. Assim, embora a contagem absoluta de reticulócitos seja indispensável para classificar a anemia quanto à regeneração, ela deve ser interpretada de maneira integrada aos demais achados hematológicos, permitindo uma análise mais criteriosa, tendo em vista as complexidades das anemias.

4 CONCLUSÃO

Os dados obtidos demonstraram que, apesar de achados como policromasia, anisocitose, macrocitose, hipocromia, corpúsculos de Howell-Jolly e eritrócitos nucleados sejam amplamente utilizados na rotina clínica veterinária para a interpretação das anemias, eles não se mostraram, no presente estudo, suficientes para, isoladamente, definir com segurança a presença ou ausência de resposta medular regenerativa em cães anêmicos, quando comparados à contagem absoluta de reticulócitos. A contagem de reticulócitos não apenas permite uma classificação mais precisa, mas também contribui para a avaliação da intensidade da regeneração e auxílio na condução adequada do paciente. Ademais, destaca-se que as informações fornecidas no eritrograma não devem ser desconsideradas, pois, uma vez que integram achados constatados ao microscópio por profissional capacitado, são fundamentais para uma compreensão mais ampla do quadro do paciente. Portanto, a inclusão do exame da contagem de reticulócitos na rotina clínica veterinária, aliada aos demais parâmetros hematológicos, mostra-se essencial para garantir maior segurança na abordagem diagnóstica e terapêutica em se tratando dos quadros anêmicos.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, R. S.; ARAÚJO, M. S.; SANTOS, R. S.; BIAGIOTTI, D.; MACHADO, L. P. Contagem de reticulócitos em cães. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 640–647, 2015.
- BAIN, B. J. Morfologia das células sanguíneas na saúde e na doença. In: BAIN, B. J. **Células sanguíneas: guia prático de morfologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.
- BELLO, B. S.; MARTINS, C. E. N.; MEDEIROS, F. D. M.; FIALKOWSKI, M. M.; POZZATTI, P. Estudo de anemias e policitemias registradas em cães de Joinville/SC de 2015 a 2017. **PUBVET**, Londrina, v. 12, n. 10, p. 1–7, 2018.
- BROOKS, M. B.; HARR, K. E.; SEELIG, D. M.; WARDROP, K. J.; WEISS, D. J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 7. ed. Hoboken: Wiley Blackwell, 2022. 4120 p.
- D'AVILA, A. E. R. Parâmetros hematológicos e classificação de anemia em uma população de cães atendidos no LACVET - UFRGS. 2011. Monografia (Residência Médica em Patologia Clínica Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
- DRUMOND, M. R. S. Ocorrência, classificação e fatores de risco de anemia em cães. 2013. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- ESPADA, C. I. L. **Parâmetros hematológicos e classificação de anemia em cães**. 2024. Relatório de estágio curricular (Licenciatura em Enfermagem Veterinária) – Instituto Politécnico de Portalegre, Escola Superior de Biociências de Elvas, Elvas, 2024.
- FERREIRA, J. C.; PATINO, C. M. Entendendo os testes diagnósticos. Parte 3. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 4–4, 2018.
- FORTE, D. N.; MARIANI, A. W. Artigos sobre testes diagnósticos. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ONCOLOGIA CLÍNICA (org.). **Leitura crítica de artigos científicos**. São Paulo: SBOC, 2011. p. 83–90.
- HODGES, J.; CHRISTOPHER, M. M. Diagnostic accuracy of using erythrocyte indices and polychromasia to identify regenerative anemia in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 238, n. 11, p. 1452–1458, 2011.

KANEKO, Jiro Jerry; HARVEY, John W.; BRUSS, Michael L. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C.; WOODS, G. L.; PROCOPE, J. P. Koneman Diagnóstico microbiológico: atlas e texto. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

MEDEIROS, N. C.; DITTRICH, R. L. Número de policromatófilos na diferenciação das anemias não regenerativas de regenerativas em cães. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 2501–2506, 2014.

MENDONÇA, I. P. Avaliação e classificação de anemias em cães. 2019. Monografia (Graduação) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Paraíba, 2019.

NEVES, D. D.; DIAS, R. M.; CUNHA, A. J. L. A. da. Testes diagnósticos 2: as propriedades do teste. **Pulmão RJ**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 174-177, 2003.

OLIVEIRA, G. M. de; CAMARGO, F. T.; GONÇALVES, E. C.; DUARTE, C. V. N.; GUIMARÃES, C. A. Revisão sistemática da acurácia dos testes diagnósticos: uma revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 2, p. 153–156, 2010.

PACHECO, J. A. F. **Classificação de anemias em cães através de diferentes métodos analíticos**. 2017. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017.

PEREIRA, M. G. Avaliação de testes diagnósticos. In: —. **Métodos de investigação epidemiológica**. 2. ed. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; Fundação Nacional de Saúde, 2002. p. 21–37. Disponível em: <https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/59/o/MetodosdeInvestigacaoEpidemiologica-SegundaEd.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2025.

PYKES, K. Cohen's Kappa. Built In, 2025. Disponível em: <https://builtin.com/data-science/cohens-kappa>. Acesso em: 10 abr. 2025.

REIS, E. A.; REIS, I. A. **Avaliação de testes diagnósticos**. Belo Horizonte: Departamento de Estatística, Universidade Federal de Minas Gerais, 2002. Disponível em: <https://www.est.ufmg.br/portal/wp-content/uploads/2023/01/RTE-03-2002.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2025.

SOPELETE, M.C. Métodos de análise em estudos sobre diagnóstico. In: MINEO, J.R.; SILVA, D.A.O.; SOPELETE, M.C.; LEAL, G.S.; VIDIGAL, L.H.G.; TÁPIA, L.E.R.; BACCHIN, M.I (org.). **Pesquisa na área biomédica: do planejamento à publicação** [online]. Uberlândia: EDUFU, 2005. p. 203–223.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos de patologia clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 744 p.

STOKOL, T. Anemia, erythrocytosis. In: ETTINGER, S.; FELDMAN, E.; CÔTÉ, E. (eds.). **Textbook of veterinary internal medicine**. 8. ed. Missouri: Elsevier, 2016. p. 740-749.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014.

TVEDTEN, H. Classification and Laboratory Evaluation of Anemia. In: BROOKS, M. B.; HARR, K. E.; SEELIG, D. M.; WARDROP, K. J.; WEISS, D. J. (eds.). **Schalm's Veterinary Hematology**. 7. ed. Hoboken: Wiley Blackwell, 2022. p. 198–208.

WOOLHEAD, V. L.; SZLADOVITS, B.; CHAN, A.; SWANN, J. W.; GLANEMANN, B. Breed predispositions, clinical findings, and prognostic factors for death in dogs with nonregenerative immune-mediated anemia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Hoboken, v. 35, n. 1, p. 252–260, 2020.