

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



UTILIZAÇÃO DE GRÁFICOS DE PONTOS NA CLASSIFICAÇÃO E AUXÍLIO DO
DIAGNÓSTICO DA ANEMIA EM GATOS E CÃES

BEATRIZ ARRUDA DE SOUSA E SILVA BARATA

ORIENTADORA:

Dra. Laura Maria Vasconcelos Machado de
Faria e Maia Almeida e Sousa

COORIENTADORA:

Professora Doutora Maria Teresa da Costa
Mendes Vítor Villa de Brito

2026

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



UTILIZAÇÃO DE GRÁFICOS DE PONTOS NA CLASSIFICAÇÃO E AUXÍLIO DIAGNÓSTICO
DA ANEMIA EM GATOS E CÃES

BEATRIZ ARRUDA DE SOUSA E SILVA BARATA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Professora Doutora Ana Margarida
Pedroso de Oliveira

ORIENTADORA:

Dra. Laura Faria e Maia Almeida e
Sousa

VOGAIS:

Professora Doutora Pâmela Cristina
Lopes Gurgel Valente

COORIENTADORA:

Professora Doutora Maria Teresa da
Costa Mendes Vítor Villa de Brito

Dra. Laura Maria Vasconcelos
Machado de Faria e Maia Almeida e
Sousa

Anexo 3 – DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE OU DISSERTAÇÃO

Nome: Beatriz Annuda de Sousa e Silva Danata

Título da Tese ou Dissertação: Utilização de Gráficos de Pontos na classificação e auxílio do diagnóstico da anemia em Gatos e Cães

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2026

Designação do curso de

Mestrado ou de

Doutoramento:

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica Produção Animal e Segurança Alimentar
 Morfologia e Função Sanidade Animal

Declaro sob compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 05 de Janeiro de 2026

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura: Beatriz Annuda de Sousa e Silva Danata

Em memória dos meus avôs.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha mãe e ao meu pai, Fátima e Ulisses, que me mostraram que o amor é incondicionalmente infinito, que me transformaram na pessoa que sou hoje. Obrigada por todos os vossos sacrifícios e dedicação, por todas as videochamadas e apoio. À Isabel, que é a prova física de que a família transcende o sangue.

À minha avó por todos os abraços, por todo o carinho e por todo o apoio que me deu ao longo destes anos.

À Dra. Laura Faria e Maia, que me acompanhou durante o estágio, e me proporcionou inúmeras oportunidades de aprendizagem e se disponibilizou para me ajudar sempre que necessário.

À Doutora Teresa Villa de Brito que aceitou ser minha coorientadora, que me recomendou este tema e co-orientou neste processo.

Gostaria de agradecer também à minha Inês, por ser a irmã que nunca tive e caminhar ao meu lado nos últimos vinte anos e, certamente, nos próximos vinte também, e à Ana Rita, por todas as chamadas, companhia, e apoio, sem vocês tinha sido impossível.

À Maria, Inês e Carlota, por todas as histórias e aventuras, sem vocês a vida era tão mais aborrecida.

Obrigada à Catarina e Mariana, minhas eternas colegas de casa, de faculdade e amigas para a vida, por terem sido a minha casa longe de casa.

À Patrícia, por ser um raio de sol até nos dias mais cinzentos da faculdade.

À Maria Inês, minha colega de casa e amiga para a vida, por me mostrar que a vida é o que nós quisermos que seja, e por aprendermos juntas a montar a porta de um forno.

À Framboesa, pelo apoio emocional. À Amora, por me ter salvo. E ao Benjamim.

Queria agradecer também a toda a equipa da clínica MyPet, por toda a paciência e carinho que me deram ao longo do estágio, e acima de tudo por me fazerem sentir em casa convosco. À Cristina, à Sofia pela confiança em mim, à Dídia, ao Nuno, ao Bruno à Fátima, à Dra. Leonor, à Dra. Tânia, ao Dr. Ricardo, e à Dra. Carla, o meu sincero obrigado.

Gostaria também de agradecer especialmente à Dra. Patrícia por toda a ajuda e dedicação no processo da escrita desta dissertação.

Utilização de gráficos de pontos na classificação e auxílio de diagnóstico da anemia em gatos e cães

Resumo

A anemia é o achado hematológico mais comum na clínica de pequenos animais, e pode ser definida como uma diminuição da massa eritrocitária, a sua etiologia é por vezes de difícil identificação.

Os gráficos de pontos obtidos através do analisador hematológico *ProCyte One** estão validados e comprovados e são uma ferramenta de potencial de auxílio de diagnóstico, mas que continua a ser subvalorizada, muitas vezes dando-se apenas preferência aos hemogramas tradicionais. As informações fornecidas nestes gráficos têm o potencial de facilitar o diagnóstico, tornando-o mais rápido e económico para os tutores, agilizando assim a chegada a um diagnóstico adequado e a seleção de um plano terapêutico apropriado e eficaz, melhorando o prognóstico dos animais.

O presente trabalho consiste num estudo retrospectivo realizado numa clínica da ilha de São Miguel, nos Açores, com uma amostragem de 32 animais, 19 gatos e 13 cães, que visa demonstrar a utilidade da utilização de gráficos de pontos na classificação da anemia e no seu consequente diagnóstico, utilizando o analisador hematológico *ProCyte One**, da IDEXX, quando comparada com a utilização do cálculo da percentagem corrigida de reticulócitos e com a contagem absoluta de reticulócitos, na classificação da anemia em regenerativa e não regenerativa.

A classificação da anemia como regenerativa e não regenerativa através dos gráficos de pontos mostrou-se concordante com a classificação obtida tanto através do cálculo da percentagem corrigida de reticulócitos, como com a contagem absoluta de reticulócitos em todas as 32 amostras.

Deste modo, a análise dos dados deste trabalho permitiu averiguar a fácil classificação da anemia como regenerativa e não regenerativa através da utilização dos gráficos de pontos, quando comparada com outros métodos mais utilizados. E explora ainda 3 casos clínicos de forma a melhor ilustrar as vantagens da análise dos gráficos de pontos obtidos com um analisador hematológico de citometria de fluxo.

Palavras-chave: Anemia; Gráfico de pontos; *ProCyte One**; Citometria de fluxo

Utilization of dot plots on the classification and diagnostic aid of anemia in cats and dogs

Abstract

Anemia is the most common hematological find in the everyday practice of small animal medicine and can be defined as a decrease in red blood cell mass, its etiology is oftentimes difficult to identify.

The dot plots obtained through the *ProCyte One** hematology analyzer are validated and proven and are a tool with potential to aid in diagnosis, but which continues to be underrated, oftentimes being given preference to only traditional blood counts. The information provided in these graphs has the potential to facilitate diagnosis, making it faster and more economical for owners, thus speeding up the process of arriving at an adequate diagnosis as well as the selection of a suitable and effective therapeutic plan, improving the prognosis of the animals. This present work is based on a retrospective study carried out in a clinic on the island of São Miguel, in the Azores, with a sample of 32 animals, 19 cats and 13 dogs, which aims to demonstrate the usefulness of utilizing dot plots in the classification of anemia and consequentially its diagnosis, using IDEXX's *ProCyte One** hematology analyzer, when compared with the use of the corrected percentage of reticulocytes and the absolute reticulocyte count, in the classification of anemia as regenerative and non-regenerative.

The classification of anemia as regenerative and non-regenerative using the dot plots was consistent with the classification obtained both through the calculation of the corrected percentage of reticulocytes and with the absolute reticulocyte count in all 32 samples.

Thus, the data analysis in this work permits us to ascertain the facilitated classification of anemia as regenerative and non-regenerative using dot plots, when compared to other more commonly used methods. It also explores 3 clinical cases to better illustrate the advantages of analyzing dot plots obtained with a flow cytometry hematology analyzer.

Keywords: Anemia; Dot plots; *Procyte One**; Flow Cytometry

Índice

Agradecimentos.....	iv
Resumo	v
Abstract.....	vi
Lista de Gráficos	ix
Lista de Tabelas.....	xi
Lista de Abreviaturas	xii
1. Relatório de Estágio.....	1
2. Introdução	4
3. Revisão de literatura	5
3.1. Hematologia Clínica.....	5
3.1.1. Eritropoiese	5
3.1.2. Leucopoiese	7
3.1.3. Trombopoiese.....	7
3.2. Caracterização da anemia.....	8
3.2.1. Definição.....	8
3.2.2. Diagnóstico e classificação da anemia.....	8
3.2.3. Avaliação do CRP (percentagem de reticulócitos corrigida).....	10
3.3. Citometria de fluxo a laser	12
3.3.1. Analisador hematológico <i>Procyte One*</i> da IDEXX.....	13
3.3.2. <i>Felis catus</i>	17
3.3.2. A importância dos gráficos de pontos.....	18
4. Utilização de gráfico de pontos na classificação e auxílio do diagnóstico da anemia em gatos e cães	20
4.1. Introdução	20
4.2. Objetivos.....	20
4.3. Materiais e métodos.....	21
4.3.1. Amostra	21
4.3.2. Aparelhos utilizados	21
4.3.3. Determinação da percentagem de reticulócitos corrigida (CRP)	21
4.3.4. Gravidade das anemias.....	22
5. Resultados.....	22
5.1. Avaliação dos gráficos de pontos.....	22
5.2. Cálculo do CRP	25
5.3. Gravidade da anemia.....	27

5.4. Casos Clínicos	28
5.4.1. Caso clínico 1	28
5.4.2. Caso Clínico 2	33
5.4.3. Caso Clínico 3	36
6. Discussão	38
7. Conclusão	39
8. Bibliografia	41
9. Anexos	43
Anexo 1. Resumo da casuística e das atividades que foram desenvolvidas durante o estágio	43

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Gráfico de pontos normal, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, de um canídeo, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**

Gráfico 2. Gráfico de pontos normal, correspondente às linhas celulares leucocitárias, de um canídeo, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**

Gráfico 3. Gráfico de pontos normal correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, de um felídeo, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**

Gráfico 4. Gráfico de pontos normal, correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias, de um felídeo, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**

Gráfico 5. Gráfico de pontos normal, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**, de um canídeo

Gráfico 6. Gráfico de pontos, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, de um cão com anemia regenerativa

Gráfico 7. Gráfico de pontos, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, de um cão com anemia não regenerativa

Gráfico 8. Primeiro gráfico de pontos obtido com o primeiro hemograma realizado ao cão do caso clínico 1, com o analisador hematológico *ProCyte One**, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias

Gráfico 9. Segundo gráfico de pontos do cão do caso clínico 1, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias

Gráfico 10. Gráfico de pontos obtido com o primeiro hemograma realizado ao canídeo referente ao caso clínico 1, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**, correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias

Gráfico 11. Terceiro gráfico de pontos do cão do caso clínico 1, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**

Gráfico 12. Quarto gráfico de pontos do cão do caso clínico 1, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**

Gráfico 13. Gráfico de pontos relativo ao primeiro hemograma realizado ao cão do caso clínico 2, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias

Gráfico 14. Gráfico de pontos correspondente a um dos hemogramas realizado ao canídeo referente ao caso clínico 2, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**, correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias

Gráfico 15. Gráfico de pontos correspondente ao último hemograma realizado ao cão do caso clínico 2, com o analisador hematológico *ProCyte One**, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias

Gráfico 16. Gráfico de pontos correspondente ao último hemograma realizado ao canídeo referente ao caso clínico 2, com o analisador hematológico *ProCyte One**, correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias

Gráfico 17. Gráfico de pontos relativo ao hemograma do felídeo do caso clínico 3, com o analisador hematológico *ProCyte One**, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias

Gráfico 18. Gráfico de pontos correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias, do felídeo do caso clínico 3, com o analisador hematológico *ProCyte One**

Lista de Tabelas

Tabela 1. Classificação do grau de regeneração da anemia no cão e no gato, com base na RET

Tabela 2. Classificação da anemia com ligeira, moderada ou grave, com base nos valores de referência do HCT

Tabela 3. Distribuição da amostra de gatos quanto à classificação da nuvem de reticulócitos em aumentada, diminuída e normal

Tabela 4. Distribuição da amostra de cães quanto à classificação da nuvem de reticulócitos em aumentada, diminuída e normal

Tabela 5. Valores do HCT, RBC, %Ret, RET, CRP e caracterização da nuvem de reticulócitos da população de gatos da amostra

Tabela 6. Distribuição da amostra de gatos quanto à classificação da anemia em regenerativa ou não regenerativa, com base no cálculo do CRP

Tabela 7. Valores do HCT, RBC, %Ret, RET, CRP e caracterização da nuvem de reticulócitos da população de cães da amostra

Tabela 8. Distribuição da amostra de cães quanto à classificação da anemia em regenerativa ou não regenerativa, com base no cálculo do CRP

Tabela 9. Distribuição da amostra de gatos quanto à classificação da anemia quanto ligeira, moderada ou grave

Tabela 10. Distribuição da amostra de cães quanto à classificação da anemia quanto ligeira, moderada ou grave

Lista de Abreviaturas

TPLO – Osteotomia de nivelamento do plateau tibial

PAAF – Punções aspirativas com agulha fina

HCT – Hematócrito

Hb – Concentração de hemoglobina da amostra

RBC – Eritrócitos totais

TRC – Tempo de repleção capilar

VCM – Volume corpuscular médio

CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média

RET – Contagem absoluta de reticulócitos

%Ret – Percentagem relativa de reticulócitos

Kg – Quilogramas

CRP – Percentagem de reticulócitos corrigida

PV – Peso vivo

1. Relatório de Estágio

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, a autora realizou o estágio curricular na MyPet – Clínica de Animais de Companhia, localizada na ilha de São Miguel, no arquipélago dos Açores, sob orientação da Dra. Laura Faria e Maia Almeida e Sousa. O estágio decorreu entre dia 23 de setembro de 2024 até dia 23 de dezembro de 2024, perfazendo um total de 528 horas, tendo como tema “Cirurgia e Clínica de Animais de Companhia”. Durante este período a autora pode também realizar a recolha de dados necessária para a elaboração da presente dissertação de mestrado.

A clínica MyPet integra uma equipa de 6 Médicos Veterinários e 6 Auxiliares de Medicina Veterinária, que prestam assistência a centenas de animais de companhia e animais exóticos de todos os concelhos da ilha de São Miguel, assim como alguns casos da ilha Terceira e da ilha de Santa Maria, sob direção da Dra. Laura Faria e Maia e da Dra. Carla Costa.

Durante o período de estágio, a autora pode acompanhar a rotina dos vários Médicos Veterinários que constituem o corpo clínico, sob a coordenação da Dra. Laura Faria e Maia, onde pode ter acesso ao sistema *Procyte One** da IDEXX utilizado na recolha de dados para o estudo em questão. Surgiu também a oportunidade de assistir a diversas cirurgias ortopédicas, nomeadamente várias cirurgias de osteotomia de nivelamento do plateau tibial, com Dr. Francisco Brandão, assim como assistir e participar em procedimentos de eletroquimioterapia, com a Dra. Leonor Pinho. No Anexo 1 é possível observar um resumo das atividades que foram desenvolvidas durante o estágio, assim como a sua repartição.

Ao longo do estágio a autora teve a oportunidade de assistir a diversas consultas, participar na discussão de escolha de métodos complementares de diagnóstico, assim como de possíveis diagnósticos diferenciais e opções de tratamento, bem como seguir a progressão dos pacientes ao longo do tratamento, discutindo possíveis ajustes ao tratamento administrado previamente. Esta participação permitiu à autora desenvolver o pensamento clínico e ponderar as várias abordagens possíveis, desde um tratamento médico, a um tratamento cirúrgico, de acordo com o prognóstico da doença em questão e a situação específica do tutor.

A autora pode também participar na vacinação de animais, preparando as vacinas e aprendendo a inserir as informações sobre as vacinas obrigatórias na plataforma oficial indicada.

A autora teve a oportunidade de executar pensos, talas, citologias auriculares e cutâneas, punções aspirativas com agulha fina, algaliações, medições da pressão arterial, curvas de glicose e realizar radiografias (posicionando o animal, escolhendo as constantes radiografias corretas e colocando as proteções radiográficas necessárias). Também foi

possível assistir à aplicação de dispositivos de monitorização contínua de glucose em gatos, diversas ecografias e procedimentos ecoguiados (como cistocenteses e toracocenteses). A autora pode também realizar colheitas de sangue, selecionar o correto tubo de amostra, e executar diversas análises bioquímicas através da máquina *Catalyst One**, hemogramas com a máquina *Procyte One**, e mais tarde *Procyte Dx**, assim como análises de urina com o Analisador IDEXX *VetLab* UA**, equipamento de análise de tiras de urina, ficando assim familiarizada com o funcionamento do ecossistema de testagem *in house* da IDEXX.

A autora assistiu também a diversas sessões de quimioterapia, e procedeu ao correto acondicionamento de material citotóxico. Sob o supervisionamento do Médico Veterinário responsável, pode realizar a admissão de animais para internamento, realizando a sua cateterização, preparando o sistema de soro e planeando a fluidoterapia mais adequada (cálculo da taxa de fluidoterapia, cálculo de bólus de fluídos quando necessários, cálculo de suplementações com glucose e potássio, etc). Pode acompanhar os animais durante o período de internamento, participando nas decisões clínicas tomadas, bem como preparar as suas altas médicas. Pode também auxiliar na preparação de transfusões de sanguíneas nos pacientes internados.

Ao longo do estágio foi também possível assistir a vários procedimentos cirúrgicos, tendo a autora a possibilidade de realizar o manejo anestésico dos animais, assim como participar como segundo cirurgião em várias cirurgias. A autora pode também consolidar as suas aprendizagens sobre as vantagens e desvantagens de diversas opções de protocolos anestésicos, assim como escolher a melhor opção adaptada ao animal e preparar a sala de cirurgia. Realizou também a preparação dos animais para a cirurgia, realizando a sua cateterização, a administração de pré-anestesia, a sua indução anestésica, a administração de fluidoterapia endovenosa, assim como realização de entubação endotraqueal e correto posicionamento do animal na mesa de cirurgia, pode também executar a tricotomia, limpeza e assépsia do campo cirúrgico, conectar corretamente os elétrodos para o exame de eletrocardiograma, o sensor do pulsoxímetro, o termómetro esofágico, colocação do medidor da pressão arterial, e monitorização dos sinais vitais do animal e da profundidade anestésica do mesmo, atuando conforme, quando assim era necessário, calculando e administrando as doses corretas de fármacos, assim com o cálculo de bólus de fluidoterapia, em situação de cirurgia. Pode preparar e acondicionar diversas amostras de biópsia para envio, assim como realizar os corretos pedidos nas plataformas dos laboratórios competentes. Pode também efetuar a abertura dos pacotes cirúrgicos e realizar o layout do *kit* cirúrgico.

A autora teve ainda a oportunidade de realizar orquiectomias e ovariectomias, destartarizações e extrações dentárias, e diversas suturas e nós cirúrgicos, como cirurgiã principal, sempre sob a orientação e com auxílio da cirurgiã responsável, aqui a autora pode consolidar e ganhar confiança na correta preparação do cirurgião, aprendendo inclusive uma

nova técnica de calçar as luvas cirúrgicas. Posteriormente, pode também acompanhar os animais durante o recobro pós-cirúrgico, vigiando o seu estado.

A autora pode, também, ter contacto com a clínica de animais exóticos, onde assistiu a diversas consultas de porquinhos-da-índia, psitacídeos, coelhos e tartarugas. Participou na discussão de possíveis diagnósticos e vias de tratamento, bem como no desencadear desses mesmos casos. Pode assistir também à castração de coelhos, e auxiliar na desinfeção e tratamento de um periquito amputado.

Ao longo do estágio, a autora não só pôs em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, como também desenvolveu novos conhecimentos de diagnóstico, terapêutica, assim como de contenção física e química. A autora ganhou destreza e confiança ao praticar os procedimentos mais simples e básicos na rotina de um Médico Veterinário de Animais de Companhia, como por exemplo, a cateterização do animal, a recolha de sangue da veia jugular, safena e cefálica, a administração intramuscular e subcutânea de medicação, a realização de ovariohisterictomias e castrações tanto de gatos como de cães, a escolha do protocolo de contenção química, assim como do protocolo anestésico, a preparação de vacinas e a sua administração, etc.

Também foi crucial o desenvolvimento de competências interpessoais, que se demonstram imperativas na Clínica de Pequenos Animais, para que possamos recolher uma anamnese proveitosa e cultivar uma relação de confiança com o tutor, por forma a garantir as melhores chances de um bom cumprimento do plano terapêutico por parte do tutor, e, conseqüentemente, sucesso terapêutico. As competências interpessoais são igualmente importantes para promover a colaboração entre a equipa que constitui o corpo clínico e cultivar as relações interpessoais.

Concluindo, a autora pode afirmar que este estágio foi uma experiência extremamente completa, desafiante, e crucial para desenvolver as competências técnico-científicas e sociais exigidas pela realidade de um Médico Veterinário de Clínica de Pequenos Animais.

2. Introdução

A anemia pode ser definida como uma diminuição da massa eritrocitária, isto corresponde a uma diminuição do hematócrito (HCT), da concentração de hemoglobina (Hb), ou uma contagem eritrocitária (RBC) abaixo dos intervalos de referência para a espécie (Couto, 2019; Mills, 2012). A anemia é a alteração hematológica laboratorial mais comum na Medicina Veterinária, que pode, por si só, tratar-se de uma doença, como é o caso da anemia hemolítica auto-imune, uma doença imunomediada, ou ser apenas um marcador de uma patologia subjacente (Stokol, 2017). Deste modo é crucial perceber se se trata de uma anemia primária ou secundária e, neste último caso, encontrar a sua origem. Apenas assim é possível efetuar um plano de tratamento bem-sucedido, de forma a ser resolvida a patologia subjacente, quando existe, e corrigida a anemia.

Por vezes, o achado laboratorial de anemia deve-se à presença de erro humano, como por exemplo aquando da colheita de sangue, ou durante sua homogeneização no tubo de colheita com o EDTA. Isto pode levar à presença de coágulos que impossibilitam a correta contagem dos conteúdos celulares do sangue, condicionando assim os resultados obtidos no hemograma. É importante fazer uma celeridade distinção entre uma verdadeira anemia e um erro laboratorial, uma vez que é crucial selecionar os exames complementares de diagnóstico mais indicados que permitam chegar a um diagnóstico correto, bem como elaborar um plano de tratamento e estabelecer um prognóstico. Erros nesta distinção podem estar associados a maiores custos no processo de diagnóstico, devido à maior carga de exames complementares necessários, que muitas vezes condicionam a sua efetiva realização e, portanto, a qualidade do diagnóstico do animal, assim como o seu subsequente tratamento e prognóstico.

Com a maior acessibilidade e distribuição de contadores hematológicos automáticos de citometria de fluxo nas clínicas, os gráficos de pontos, representações gráficas do número total de células da amostra sanguínea e da sua divisão nos seus respetivos tipos de células, passaram a ser um recurso acessível a um maior número de utilizadores, mas continua a haver uma subvalorização dos mesmos, sendo muitas vezes ignorados pela maioria, dando-se apenas preferência aos hemogramas tradicionais (Couto, 2016).

As informações fornecidas pelos gráficos de pontos têm assim o potencial de agilizar o processo de classificação da anemia, permitindo detetar alterações celulares que de outra forma seriam difíceis de identificar, facilitando o diagnóstico do animal, agilizando este processo e tornando-o mais económico, e, assim, melhorando o prognóstico dos animais e a seleção de um plano terapêutico adequado e eficaz.

3. Revisão de literatura

3.1. Hematologia Clínica

A hematopoiese refere-se à produção de células do sangue, começa com as células estaminais hematopoéticas, na medula óssea, que atuam como o reservatório de substituição das células do sangue encontrando-se numa proporção de 1 para cada 10.000 a 100.000 células sanguíneas maduras. O microambiente da medula óssea possui unidades funcionais altamente especializadas para a formação de cada linha celular, estas unidades funcionais são chamadas nichos (Borjesson e Overmann, 2022; Car e Seelig, 2022).

As células estaminais são células multipotentes que dão origem aos elementos celulares maduros do sangue, tais como os eritrócitos, neutrófilos, monócitos, plaquetas, etc (Borjesson e Overmann, 2022). No início deste processo as células estaminais originam células-filhas que podem manter-se como células estaminais, ou seja realizar a sua autorrenovação, de forma a manter os números da população de células estaminais pluripotentes, ao começar o processo de diferenciação, numa determinada linha celular específica (Junqueira e Carneiro, 2013b).

A diferenciação da célula pró-mieloide em megacariócitos/ célula progenitora eritroide está associada com a expressão de vários fatores de transcrição gene específicos, recetores de fatores de crescimento, proteínas funcionais, e recetores de superfície de superfície celular (*cell surface receptors*), e é influenciada por uma variedade de fatores de crescimento. Os fatores de transcrição gene específicos são predominantemente ativadores da transcrição e normalmente funcionam como um complexo proteico que se liga a sequências de ADN específicas (Olver, 2022).

A regulação da diferenciação das células estaminais é controlada por um conjunto de fatores, são eles as citocinas, o microambiente onde existem, também chamada a interação do nicho, e os reguladores da autorrenovação da pluripotência (Borjesson e Overmann, 2022). Uma vez que o tempo de vida das células sanguíneas maduras é bastante curto a sua produção, ou seja, a hemocitopoiese, é um processo contínuo no organismo dos animais (Car e Seelig, 2022).

3.1.1. Eritropoiese

O eritrócito é a célula madura da linha eritrocitária, que chegou ao final da maturação, podendo exercer todas as suas funções especializadas, nomeadamente o transporte de oxigénio e dióxido de carbono no organismo (Junqueira e Carneiro, 2013b).

O processo de formação de eritrócitos designa-se eritropoiese, esta ocorre na medula óssea, demorando entre 3 e 5 dias, e, para que possa suceder, é necessária a presença de três requisitos básicos: células estaminais pluripotentes, citocinas, e um microambiente adequado para a formação da linha celular em questão, neste caso, para a linha eritrocitária.

Este microambiente, também chamado nicho, necessita de incluir o fornecimento de oxigénio, nutrientes, ferro e aminoácidos (Mills, 2012).

A eritropoiese ocorre sob a influência de citoquinas específicas, que atuam diretamente nos recetores da superfície das células estaminais precursoras de eritrócitos. Estas citoquinas incluem a interleucina 3 e a eritropoietina. A eritropoietina atua nas células tronco eritroides, de forma a estimulá-las a iniciarem um ciclo celular ativo e a proliferarem. Um aumento dos níveis de eritropoietina irá aumentar o número de células estaminais eritroides, melhorar a sobrevivência de células eritroides em desenvolvimento, promover a libertação de eritrócitos maduros, libertando as células mais maduras primeiro, e, por fim, aumentar o número de eritrócitos a serem efetivamente produzidos pela medula óssea (Mills, 2012).

Em animais saudáveis a eritropoiese é regulada pelos níveis de oxigénio celulares e pode ser classificada como basal, quando ocorre para substituir os eritrócitos naturalmente senescentes de forma a manter a massa eritrocitária normal, e eritropoiese por stress, referindo-se à eritropoiese que ocorre em resposta a um estímulo anémico, tais como hemorragia, hemólise e gravidez (Olver, 2022).

O primeiro precursor é o rubriblasto, seguido pelo prorubricito, o rubricito basófilo, o rubricito policromatofílico, e o metarubricito. O processo de diferenciação das células precursoras de eritrócitos consiste numa série de etapas da diferenciação que resultam numa diminuição progressiva do tamanho celular, um aumento gradual da concentração citoplasmática de hemoglobina, e na condensação gradual da cromatina nuclear. Tal facto, vai originar uma diminuição da basófilia citoplasmática, assim como do tamanho do núcleo. O núcleo dos metarubricitos são posteriormente removidos, de forma a produzir reticulócitos (Olver, 2022).

Posteriormente, os reticulócitos saem da medula, sob a forma de reticulócitos agregados, e sofrem maturação durante a circulação, transformando-se primeiro em reticulócitos pontilhados, e seguidamente em reticulócitos maduros. Durante este processo os reticulócitos aumentam ainda mais a sua concentração em hemoglobina e perdem organelos (mitocôndrias, ribossomas e restos do aparelho de Golgi), sofrem remodelação da membrana e alterações metabólicas, transformando-se em eritrócitos maduros funcionalmente especializados no transporte de oxigénio. A implementação de técnicas de citometria de fluxo na contagem de reticulócitos, com a utilização de corantes dos ácidos nucleicos, permitiu a demonstração de que os reticulócitos são uma população celular heterogénea com diferentes fases de maturação (Olver, 2022; Pires dos Santos e Christian, 2022).

3.1.2. Leucopoiese

As células multipotentes hematocitopoiéticas podem dar origem a células linfoides multipotentes, que migram para os órgãos linfoides, e vão originar os linfócitos B e T, assim como podem diferenciar-se em células mieloides multipotentes, que se mantêm na medula óssea, e originam células formadoras de megacariócitos que vão dar origem aos megacariócitos; células monocíticas e granulocíticas formadoras e colónias, que irão correspondentemente originar os monócitos e neutrófilos; células eosinofílicas formadoras de colónias, que tal como o nome indica irão originar os eosinófilos; e por fim, células basofílicas formadoras de colónia que vão dar origem aos basófilos (Junqueira e Carneiro, 2013b).

Os glóbulos brancos podem ser divididos em granulócitos e agranulócitos. Os granulócitos compreendem os neutrófilos, os eosinófilos, e os basófilos. Já os agranulócitos referem-se aos linfócitos e aos monócitos. Os neutrófilos mais jovens, ou imaturos, possuem um núcleo não segmentado, sendo chamados de neutrófilos em bastonete ou em banda (Junqueira e Carneiro, 2013a).

O tempo de vida dos neutrófilos é de aproximadamente 8 a 12 horas em circulação, e há uma reserva de cerca de 5 dias de neutrófilos na medula óssea, a que chamamos o *pool* de reserva. Quando o organismo está perante uma inflamação ou infeção ligeira vão saindo da medula apenas os neutrófilos mais maduros, mas à medida que se vão esgotando contra a infeção e a morte de neutrófilos é superior ao ritmo a que podem ser libertados, começamos a presenciar falhas na mitose, saltando fases, o que vai dar origem à presença de neutrófilos imaturos ou em banda em circulação no sangue periférico. Os neutrófilos imaturos são assim um marcador por excelência da inflamação ativa. Já os neutrófilos tóxicos são neutrófilos que sofrem alterações devido à presença de citocinas inflamatórias, alterações tais como a inclusão de corpos de Döhle e a presença de maturação nuclear assíncrona. Animais com um desvio à esquerda dos neutrófilos ou com presença de neutrófilos tóxicos apresentam um pior prognóstico (Levine e Andreasen, 2022; IDEXX Vet, 2021a; Stockham e Scott, 2008).

3.1.3. Trombopoiese

As plaquetas são estruturas enucleadas, formadas na medula óssea através da fragmentação do citoplasma dos megacariócitos, que se encontram adjacentes aos capilares sinusoides, facilitando assim a libertação das mesmas para a corrente sanguínea. Normalmente apresentam menores dimensões que os eritrócitos. As plaquetas dos felídeos exibem geralmente maiores dimensões que as dos canídeos, e para além disso têm uma maior tendência para a formação de coágulos quando expostas a anticoagulantes, o que leva a uma contagem errónea do número de plaquetas no trombograma, algo extremamente comum nos hemogramas dos gatos (Junqueira e Carneiro, 2013b; Powell e Torrance, 2012).

3.2. Caracterização da anemia

3.2.1. Definição

A anemia é a alteração hematológica mais vulgarmente encontrada na prática clínica de Medicina Veterinária, e tanto pode ser a causa de patologia, como é o caso da anemia hemolítica imunomediada, como um marcador de presença de uma patologia subjacente, uma vez que muitas patologias provocam uma anemia secundária, tais como a doença renal, endocrinopatia, inflamação e neoplasia (Stokol, 2017; Grzelak e Fry, 2022). Assim, a anemia pode ser multifatorial em termos etiológicos, o que pode dificultar a descoberta da causa subjacente e pode até haver casos em que o seu mecanismo e causa continuam a ser ambíguos (Stokol, 2017).

Esta pode ser definida como uma diminuição da massa eritrocitária. Em termos práticos, isto corresponde a uma diminuição do hematócrito (HCT), da concentração de hemoglobina (Hb), ou uma contagem eritrocitária (RBC) abaixo dos intervalos de referência para a espécie (Couto, 2019; Mills, 2012).

Existem três mecanismos fisiopatológicos que levam a anemia, são eles a hemorragia, ou seja, a perda de sangue, a hemólise, isto é, a diminuição do tempo de vida dos eritrócitos, havendo a sua destruição, e a diminuição da produção de eritrócitos. A distinção entre estes mecanismos é importante para identificar a causa subjacente da anemia, para tal é crucial a realização de um exame físico minucioso, recolha de uma anamnese extensa e apreciação do historial clínico do animal, avaliação dos sinais clínicos, resultados de testes imagiológicos, e resultados clínicos patológicos (Stokol, 2017).

3.2.2. Diagnóstico e classificação da anemia

Há diversos sistemas de classificação da anemia em uso e baseados em vários testes e observações (Tvedten, 2022). Ainda assim, os diferentes termos utilizados normalmente levam a diagnósticos semelhantes. Independentemente do sistema de classificação utilizado o objetivo deve ser sempre obter o diagnóstico mais correto e específico de forma a possibilitar o tratamento adequado pelo Médico Veterinário (Tvedten, 2022).

Os sinais clínicos de anemia podem ser agudos ou crónicos e a sua gravidade varia de animal para animal. Em cães e gatos, os sinais clínicos mais comuns são a presença de mucosas ictéricas ou pálidas, letargia, intolerância ao exercício, e alotriofagia, apenas nos gatos. Em casos crónicos os tutores podem ainda detetar algumas adaptações à anemia, tais como um aumento do choque pré-cordial ou a presença de taquicardia (Couto, 2019).

A anemia pode também ser demasiado ligeira para haver representação clínica, sendo apenas identificada através de análises hematológicas dos animais. O propósito das análises laboratoriais é providenciar provas imparciais e objetivas que suportem ou refutem o diagnóstico clínico feito. O diagnóstico laboratorial da anemia deve ser primeiramente

baseado nos resultados laboratoriais numéricos obtidos através de instrumentos hematológicos, mas também na interpretação subjetiva da morfologia celular em esfregaços sanguíneos e dos gráficos obtidos pelos analisadores hematológicos (Tvedten, 2022).

O primeiro passo da avaliação clínica de um animal com uma potencial anemia é verificar se esta está efetivamente presente e qual é a sua gravidade. Os parâmetros laboratoriais normalmente utilizados para efetuar esta avaliação são o hematócrito (HCT), a contagem absoluta de eritrócitos (RBC) e o doseamento de hemoglobina (Hb) (Tvedten, 2022).

Nem todos os animais com mucosas pálidas são anêmicos, e, portanto, é imperativo distinguir se se trata efetivamente de anemia ou de hipoperfusão dos tecidos. Esta distinção pode ser feita através da medição do tempo de repleção capilar (TRC), que está aumentado em casos de animais com doença cardiovascular ou com hipoperfusão. Já em animais anêmicos o TRC tende a estar normal (Couto, 2019).

Se o HCT, RBC e Hb não estiverem todos proporcionalmente diminuídos num caso de anemia, então os eritrócitos desse animal não são normais em termos de tamanho e quantidade de hemoglobina. As alterações nos índices eritrocitários, ou seja, no volume corpuscular médio (VCM) e na concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) ajudam a explicar qualquer discordância em termos de diminuições relativas (Tvedten, 2022).

A determinação da eficácia da eritropoiese da medula óssea divide a anemia em anemia não regenerativa, ou seja, sem eritropoiese ou com uma eritropoiese fraca, e regenerativa, onde há evidências de uma eritropoiese ativa e eficaz. Esta classificação é feita normalmente avaliando a resposta reticulocitária. É importante ter em consideração que em gatos os reticulócitos apresentam padrões correspondentes aos organelos condensados no interior das células, que podem ser pontilhados, ou seja, são visualizados grânulos, ou agregados, onde são visualizadas linhas ou até mesmo agregados de grânulos. Nas respostas regenerativas em gatos os reticulócitos agregados são os primeiros a serem libertados. O nível do aumento da contagem absoluta de reticulócitos (RET) por unidade de volume de sangue, expressa em milhares de reticulócitos por microlitro de sangue, reflete bem o quão eficaz a resposta eritropoética da medula é no paciente em questão (Tvedten, 2022; Powell and Torrance, 2012).

Tabela 1. Classificação do grau de regeneração da anemia no cão e no gato, com base na RET

Grau de Regeneração	Contagem de reticulócitos caninos (em milhares por μL)	Contagem de reticulócitos agregados felinos (em milhares por μL)
Inadequado	< 92	< 61
Dúbio	93 - 153	61 - 85
Ligeiro	154 - 200	86 - 100
Moderado	201 - 300	101 - 200
Marcado	> 300	> 200

Tabela baseada nos valores encontrados em eClinPath.com, (s.d.a), que têm por base os limites superiores dos intervalos de referência para as espécies.

3.2.3. Avaliação do CRP (percentagem de reticulócitos corrigida)

Outra forma de verificar se a resposta reticulocitária é adequada para a anemia do animal é através do cálculo da percentagem de reticulócitos corrigida (CRP). Este é obtido através da fórmula:

$$\text{CRP} = \% \text{Ret} \times (\text{HCT do animal} \div \text{HCT média})$$

O cálculo do CRP admite valores de HCT médios para cães de 45% e para gatos de 35%, o que pode não corresponder à realidade em alguns animais, nomeadamente nos galgos, em que um HCT de 45% corresponde a um quadro de anemia. Para que a anemia seja considerada regenerativa em cães o CRP deve assumir valores acima de 1%, enquanto em gatos este deve ser superior a 0,4%. Valores inferiores a estes indicam a presença de anemia não regenerativa ou pré regenerativa, ou seja, uma resposta medular não adequada para a anemia presente (eClinPath.com, s.d.a).

A anemia regenerativa é normalmente mais facilmente diagnosticada do que a não regenerativa. A anemia regenerativa tem como causa a perda de eritrócitos para o exterior, como por exemplo hemorragias externas, ou lise dos eritrócitos dentro do corpo, como ocorre na anemia hemolítica e nas hemorragias internas. A anemia não regenerativa está normalmente associada a uma disfunção primária ou secundária da medula óssea, que regularmente não apresenta uma causa aparente (Tvedten, 2022; Kolkka, 2016).

As anemias regenerativas têm sempre causas extramedulares uma vez que a presença de reticulócitos ou eritrócitos policromatófilos é indicadora de uma medula óssea funcional. Contudo, é importante ter em consideração que todas as anemias causadas por hemorragia aguda ou hemólise são não regenerativas ou pré-regenerativas, nas primeiras 48 a 96 horas (Couto, 2019).

A interpretação da presença de reticulócitos, num caso de anemia inicial, ou seja, uma anemia pré-regenerativa pode ser difícil, quando estes ainda não se apresentam aumentados, bem como numa anemia mais antiga em que há uma diminuição do número dos reticulócitos (aos 10 a 14 dias). Mais tardiamente num caso de anemia o número de eritrócitos macrocíticos e hipocrómicos pode ser mais adequado para medir a resposta regenerativa inicial do que os reticulócitos, que podem estar a diminuir ou até já de volta a valores normais (Tvedten, 2022).

Algumas afeções podem ter efeitos no tamanho dos eritrócitos, aparecendo eritrócitos microcíticos, normocíticos, ou macrocíticos, e alterações na concentração de hemoglobina eritrocitária, que se pode apresentar hipocrómica (reduzida) ou normocrómica (normal). As alterações de hipercromia, ou seja, de um CHCM aumentado ou de um aumento na densidade ótica detetada pelos instrumentos hematológicos, indicam que estamos na presença de um erro nos resultados e não se trata de uma alteração causada por doença. Os erros pré-analíticos e analíticos tais como a hemólise, lipemia, causam artefactos que podem apresentar-se como um aumento da concentração de hemoglobina eritrocitária (Tvedten, 2022).

Os três padrões de diagnóstico de maior importância são as anemias macrocíticas e hipocrómicas (anemias regenerativas com eritrócitos grandes, jovens, e que ainda não estão totalmente hemoglobinizados), anemias normocíticas e normocrómicas (anemias não regenerativas com um número residual de eritrócitos normais), e anemias microcíticas e hipocrómicas (normalmente causadas por défices em ferro, anemias ferroprivas). Nos gatos é também possível verificar anemias macrocíticas e normocrómicas, que são comuns em, por exemplo, situações de infeção por Felv. No entanto é importante ter em atenção que mais de 80% das anemias regenerativas não são macrocíticas e hipocrómicas, e que, portanto, é mais relevante a avaliação de outros parâmetros, tais como o HCT (Tvedten, 2022; IDEXX Vet, 2021b).

A anemia pode ainda ser classificada entre ligeira, moderada e grave com base nos valores do HCT como é possível ver na tabela 1. Esta distinção pode ser importante a nível de auxílio no diagnóstico, isto é, se um animal apresentar uma anemia grave causas como doença renal, deficiência em ferro, e doenças crónicas podem à partida ser excluídas, uma vez que nenhum dos mecanismos destas afeções causaria alterações tão graves no HCT. Assim, o mais provável seria estar-se perante um caso de uma hemólise ou lesão da medula óssea. Para além da avaliação do HCT é também importante a avaliação da coloração do plasma da amostra de sangue, de forma a averiguar se este se apresenta ictérico, ou seja, tem uma coloração amarela, se há evidências de hemólise, quando o plasma assume uma coloração rosa ou avermelhada, ou até a presença dos dois, quando o plasma tem coloração de vinho do porto (Couto, 2019; eClinPath.com, s.d.b).

Tabela 2. Classificação da anemia com ligeira, moderada ou grave, com base nos valores de referência do HCT

	Cães	Gatos
Sem anemia	58 a 41%	48 a 31%
Ligeira	40 a 30%	30 a 25%
Moderada	30 a 20%	25 a 15%
Grave	<20%	< 15%

Tabela baseada nos valores encontrados em eClinPath.com,s.d.b.

Um problema comum que surge é se a realização dos hemogramas completos deve ser efetuada na clínica ou se as amostras devem ser enviadas para um laboratório de referência. Com o aparecimento de analisadores hematológicos mais pequenos e com a utilização de técnicas mais avançadas, como a citometria de fluxo a laser, houve uma revolução na prática de clínica de pequenos animais. A maioria destes instrumentos fornece resultados precisos, contudo, quando os valores se encontram fora dos valores de referência ou são encontrados outros problemas, deve ser realizado um esfregaço sanguíneo. Muitas vezes estes novos analisadores fornecem ainda representações gráficas dos resultados, por exemplo na forma de gráficos de pontos ou de histogramas. Dependendo do analisador utilizado estes gráficos de pontos podem fornecer informações relevantes tais como o tamanho das células, à sua distribuição, e à presença de reticulócitos (Couto, 2019).

Contudo a avaliação de esfregaços sanguíneos mantém-se essencial na classificação da anemia, particularmente quando se trata de anemia hemolítica. Apesar da avaliação do esfregaço ser subjetiva, é crucial para um correto diagnóstico, devendo esta ser efetuada por um técnico de microscopia treinado. Alguns exemplos incluem hemoparasitas, esferócitos, autoaglutinação, corpos de Heinz, excentrócitos, picnócitos, e hipocromia (Tvedten, 2022).

3.3. Citometria de fluxo a laser

A citometria de fluxo é uma tecnologia utilizada para medir ou caracterizar partículas biológicas, nomeadamente células inteiras, assim como os seus constituintes celulares. Esta baseia-se na medição da dispersão da luz de um laser, quando este atinge as partículas ou células em estudo. Ou seja, as células da amostra, em suspensão, fluem em fila única, passando por um feixe de luz laser, quando este incide individualmente as células podem ocorrer dois fenómenos: a dispersão da luz, que está diretamente relacionada com as características morfológicas e estruturais específicas de cada célula; e a emissão de

fluorescência, isto se as células estiverem ligadas a sondas fluorescentes (Radcliff and Jaroszeski, 1998). Esta dispersão da luz é o resultado da reflexão e refração da luz do laser nas células e pode ser medida em ângulo reto em relação à direção do feixe do laser, sendo chamada dispersão de luz ortogonal e está diretamente relacionada com a granularidade da célula em questão. Já a dispersão de luz medida da direção frontal, ou seja, a fazer um ângulo de 180° do ponto onde o laser interseca a célula, é chamada dispersão frontal e está relacionada com o tamanho da célula (McCoy, 2002).

Após a medição da dispersão da luz e se pertinente, da fluorescência emitida, pelo citómetro é então possível que estes dados sejam analisados e avaliados por um software específico. A citometria de fluxo tornou-se rapidamente uma tecnologia crucial para a caracterização das células de uma amostra, especialmente porque que tem a capacidade de processar as informações individuais de milhares de células ou partículas, em vez de efetuar apenas médias do total de partículas ou células, tudo em meros segundos (Radcliff and Jaroszeski, 1998).

Os citómetros de fluxo podem ser mais facilmente explicados como um organismo composto por quatro sistemas interrelacionados, são estes: o sistema ótico, que inclui o laser em si que irá incidir em cada célula; o sistema de fluxo, responsável pelo transporte das células da amostra, em fila única, por um ponto específico de contacto entre o laser e as células e de recolha da trajetória ótica pelos detetores; o sistema elétrico, que irá medir a dispersão da luz e fluorescência emitida, quando o laser incide nas células da amostra; e, por fim, o próprio sistema computacional e de armazenamento de dados, que irá traduzir e interpretar a luz e sinais elétricos, transformando-os em dados valiosos para posterior análise, o histograma, ou gráfico de pontos continua a ser usado frequentemente (McCoy, 2002; McKinnon, 2018).

O sistema ótico pode ainda ser dividido em 2 componentes: os necessários para excitar as células, que incluem a fonte luminosa, ou seja o laser, as lentes e os espelhos utilizados para dar forma, focar e direcionar a luz para o ponto onde as células vão ser incididas; e os necessários para a coleção da luz emitida ou dispersada pelas células, que incluem um conjunto de filtros e espelhos para separar e direcionar as emissões dos diferentes comprimentos de onda para os detetores correspondentes (McCoy, 2002).

3.3.1. Analisador hematológico *Procyte One da IDEXX**

O analisador hematológico *Procyte One** da IDEXX é um analisador hematológico automático, para sangue animal que avalia e apresenta resultados para 24 parâmetros, para cada amostra sanguínea, em menos de 5 minutos. Este funciona fazendo incidir um feixe de luz (laser) em cada célula individual e quantificando a dispersão de luz em quatro detetores separados. Concomitantemente, é também medido o tempo que a célula demora a atravessar

a luz do laser, fornecendo assim dados sobre o diâmetro das células a serem avaliadas. As células são então qualificadas mediante o seu tamanho, a sua granularidade, a sua complexidade, e a absorção de luz. Com estes dados é possível analisar os eritrócitos e chegar a uma contagem absoluta de reticulócitos. Os dados referentes à hemoglobina são obtidos através de espectrofotometria, ou seja, depois de se dar a lise dos eritrócitos, de maneira a libertarem a hemoglobina, a absorvância da amostra é medida e comparada com referências utilizando a lei de Beer-Lambert. Os gráficos de pontos são uma representação visual da contagem total das células do sangue. O eixo x representa a complexidade das células e o eixo y o tamanho (*ProCyte One* operator's guide, 2022*).

Nos gráficos de pontos obtidos cada ponto irá corresponder a uma célula, e cada nuvem corresponderá a uma determinada população celular, distinguidas através de cores diferentes. Alterações no tamanho ou distribuição destas nuvens de pontos significam alterações na população celular em questão. Em relação aos gráficos apresentados pelo analisador hematológico *Procyte One* vamos obter 2 gráficos, um com as informações sobre as linhas celulares eritrocitárias e outro sobre as linhas celulares leucocitárias (*ProCyte One* operator's guide, 2022*).

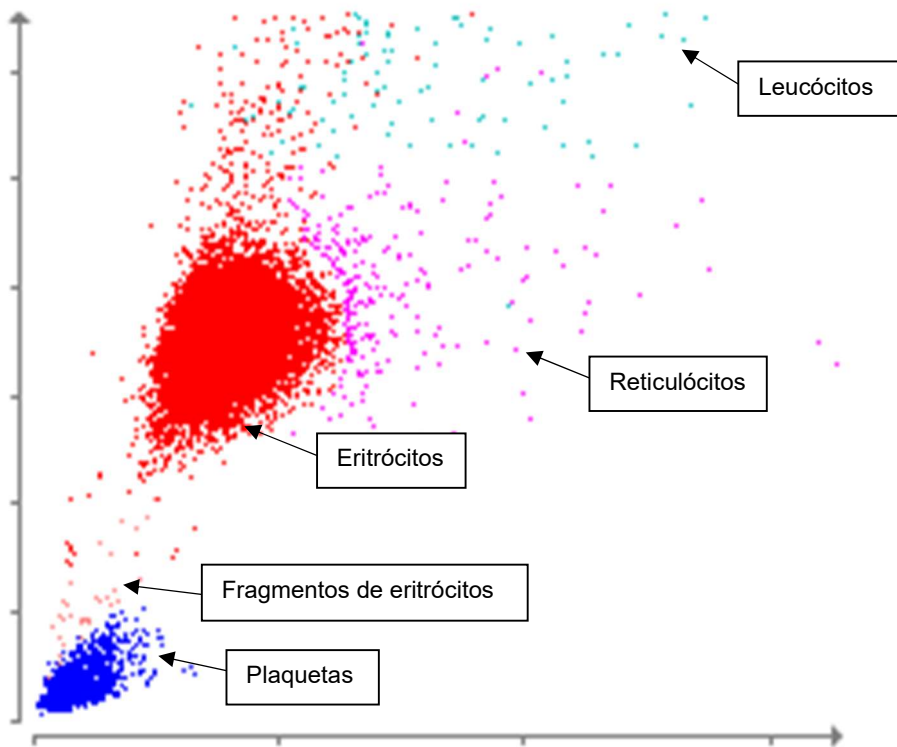
Nos gráficos correspondentes às linhas celulares eritrocitárias podemos visualizar a população de eritrócitos representada a vermelho, as plaquetas com uma coloração azul e colocadas mais abaixo no eixo y e uma vez que têm um tamanho menor, os reticulócitos, que graças ao corante novo azul de metileno, presente no frasco de reagentes, precipita o ácido ribonucleico citoplasmático dos mesmos, situando-se assim mais à direita do eixo x, com uma coloração magenta, e por fim, os fragmentos de eritrócitos a cor-de-rosa (*ProCyte One* operator's guide, 2022*).

Já nos gráficos correspondentes às linhas celulares leucocitárias podemos encontrar os neutrófilos a roxo, os monócitos, uma vez que são maiores e apresentam uma maior complexidade celular que os neutrófilos encontram-se acima destes e ligeiramente à sua direita, e apresentam uma coloração vermelha, os linfócitos uma vez que apresentam dimensões menores que as restantes células brancas, situam-se mais abaixo no ângulo y e estão representados a azul, os eosinófilos estão representados a verde, por fim, os basófilos, como são a população celular de menores dimensões encontram-se diretamente à direita dos monócitos e abaixo dos neutrófilos e irão apresentar uma coloração turquesa. Os agregados plaquetários irão também aparecer aqui, representados a azul-claro. Podem também estar representados a laranja os eritrócitos não lisados durante o processo de lise dos eritrócitos, que são devidamente identificados de forma a assegurarem a correta contagem dos leucócitos (*ProCyte One* operator's guide, 2022*).

3.3.2. Canídeos

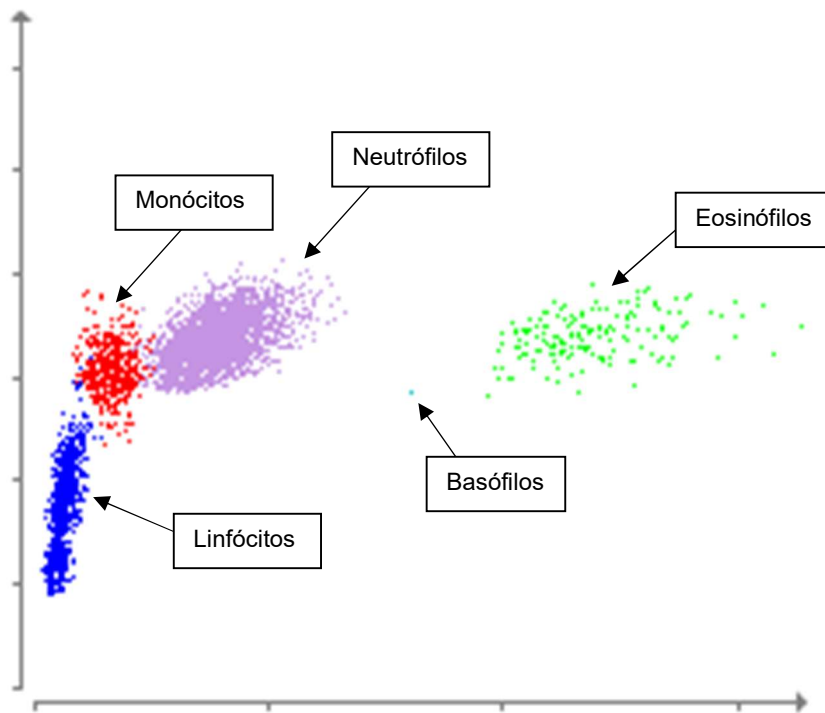
Nos casos dos canídeos, os estudos indicam que os gráficos de pontos normais quer para eritrograma e para o leucograma são os seguintes (gráfico 1 e 2):

Gráfico 1. Gráfico de pontos normal, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, de um canídeo, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade. A vermelho a nuvem que representa a população de eritrócitos, a azul as plaquetas, e a magenta os reticulócitos, os fragmentos de eritrócitos a cor-de-rosa, acima da nuvem de plaquetas.

Gráfico 2. Gráfico de pontos normal, correspondente às linhas celulares leucocitárias, de um canídeo, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**

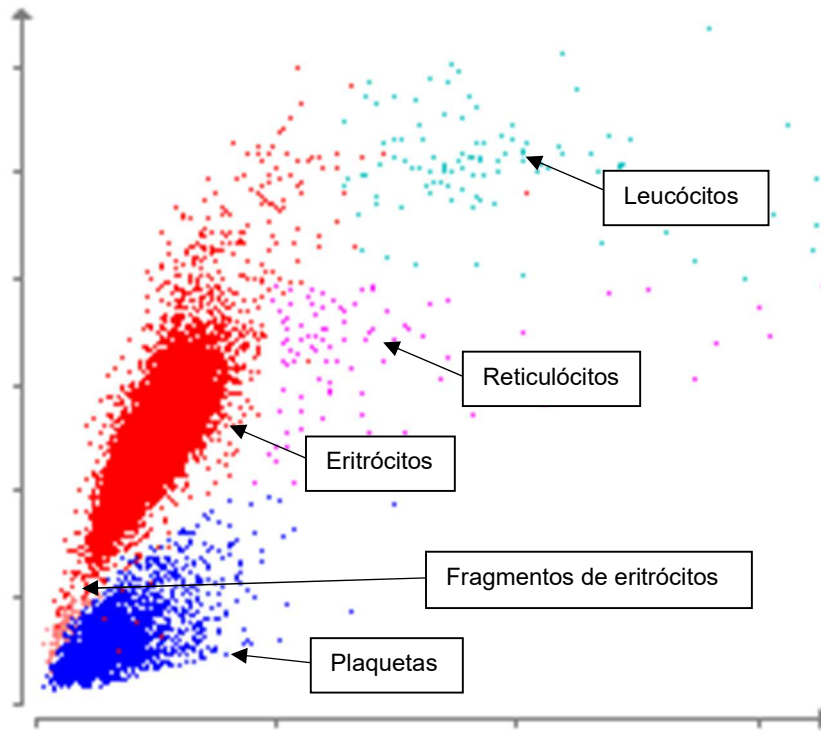


O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

3.3.2. *Felis catus*

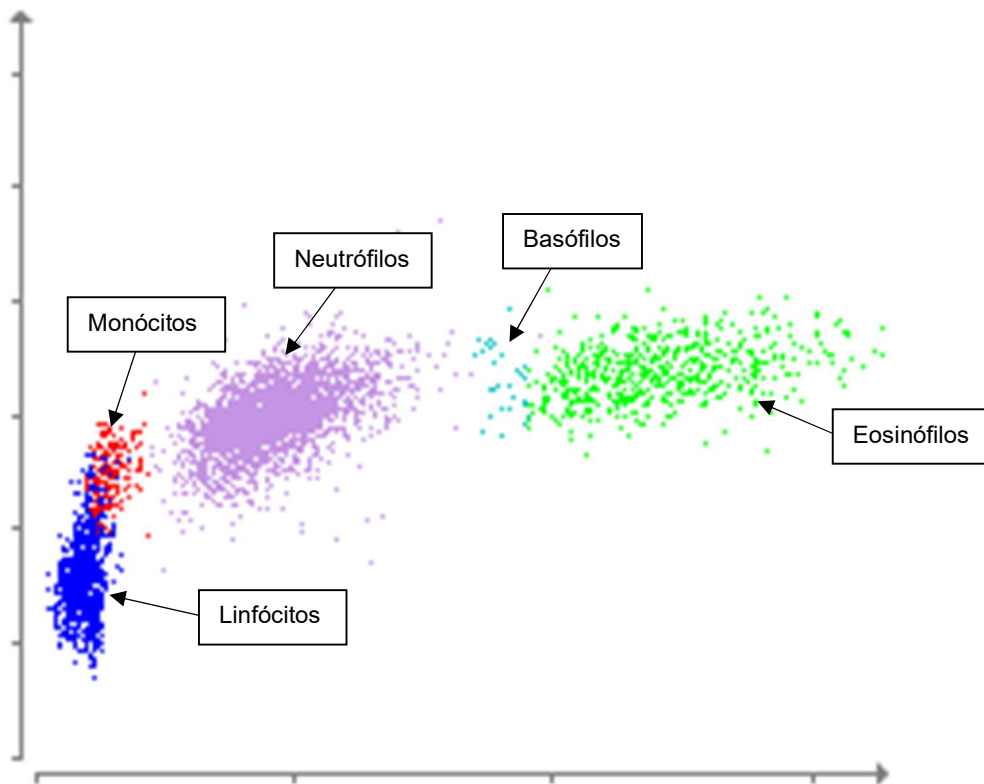
No caso dos gatos, os estudos indicam que os gráficos de pontos normais quer para eritrograma e para o leucograma são os seguintes (gráfico 3 e 4):

Gráfico 3. Gráfico de pontos normal correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, de um felídeo, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

Gráfico 4. Gráfico de pontos normal, correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias, de um felídeo, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

3.3.2. A importância dos gráficos de pontos

A maioria dos médicos veterinários imprime um relatório somente com os dados numéricos dos hemogramas, que contêm apenas barras que indicam se um determinado parâmetro está dentro dos valores normais, diminuído ou aumentado. No entanto, a maioria dos instrumentos de análise têm a capacidade de incluir histogramas, gráficos de dispersão ou gráficos de pontos nos relatórios. Estes gráficos fornecem informações valiosas em relação ao tamanho, complexidade e distribuição das células da amostra. Curiosamente, a maioria dos clínicos tende a ignorar estes gráficos, uma vez que aparentam ser confusos e intimidantes (Couto, 2016).

Cerca de metade dos gatos e cães com um quadro sistêmico séptico apresentam um leucograma perfeitamente dentro dos valores dos intervalos de referência, de forma que se não forem analisados os gráficos de pontos obtidos pelos analisadores hematológicos ou realizados esfregaços sanguíneos, muito dificilmente se vai chegar a um diagnóstico correto (IDEXX Vet, 2021b). Um estudo realizado em 2014 revelou que 1 em cada 3 gatos com um desvio dos neutrófilos à esquerda têm contagens de neutrófilos normais, ou seja, apenas

analisando os valores dos hemogramas podemos estar a perder informações sobre o estado de animais com infeções sistémicas severas (Burton et al., 2014).

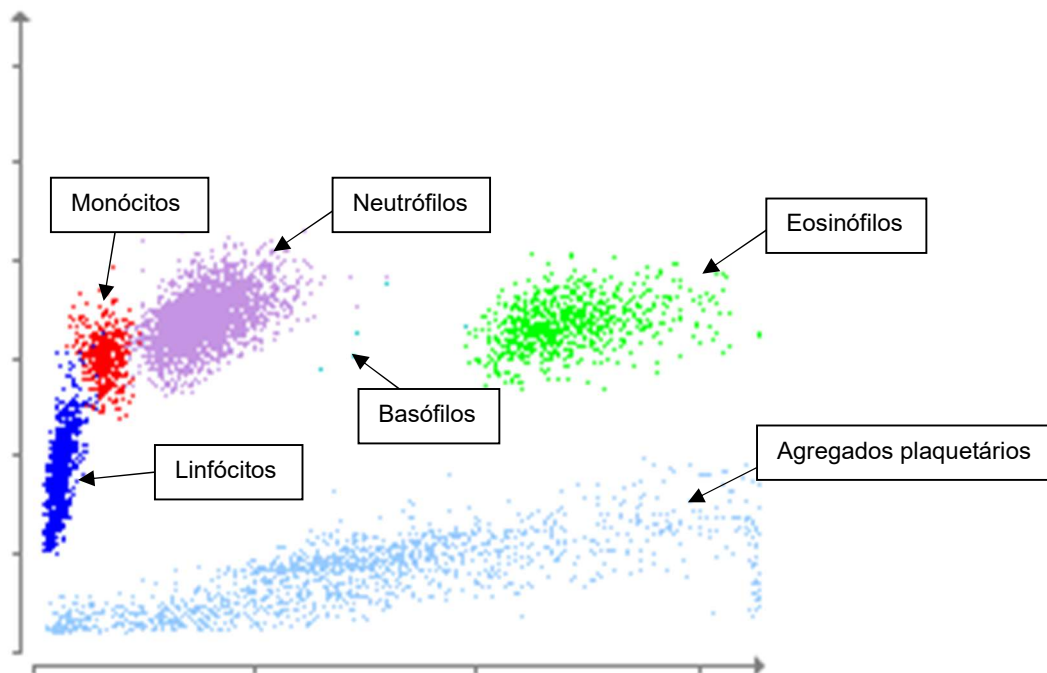
A avaliação das “nuvens” de pontos, que representam populações de células, fornece informações sobre a morfologia e distribuição das células. Por exemplo, permite uma caracterização rápida da anemia enquanto regenerativa ou não, e fornece-nos também informações sobre a presença de eritrócitos nucleados, células tumorais, agregados plaquetários, desvios à esquerda, e alterações devido a toxicidade (Couto, 2016). Durante a avaliação clínica inicial do paciente, esta avaliação dos gráficos de pontos ou a visualização do esfregaço sanguíneo são o suficiente para classificar a resposta da medula óssea (Couto, 2019).

Um hemograma e uma RET num animal anémico fornecem dados absolutos com os quais podemos inferir o grau de regeneração da anemia. No entanto, a informação apresentada deve ser avaliada de forma cuidadosa uma vez que o número de reticulócitos deve aumentar de forma proporcional à diminuição do hematócrito. É também necessário ter em conta que foi provado que a excitação nos cães provoca a libertação de reticulócitos para a circulação sistémica, assim um cão excitado terá uma RET maior do que um cão calmo. Normalmente os cães e gatos com um HCT normal apresentam menos de 10.000 e 50.000/ μ L. Quando avaliamos gráficos de pontos a presença de uma nuvem de reticulócitos grande está fortemente ligada a uma situação de regeneração (Couto, 2019).

Através da análise de um gráfico de pontos referente aos glóbulos brancos de um animal é também possível verificar se estamos perante a presença de um desvio à esquerda dos neutrófilos ou de neutrófilos tóxicos. Estes podem ser identificados através da perda da separação entre as nuvens de monócitos e neutrófilos, isto porque os neutrófilos mais jovens, ou com alguma toxicidade vão apresentar maior complexidade celular, podendo ser confundidos com monócitos. Também pode estar presente um aumento da verticalidade da nuvem de neutrófilos, move-se para cima e para a esquerda, é uma indicação da presença de neutrófilos tóxicos, ou de um desvio à esquerda, ou seja, da presença de neutrófilos mais jovens em circulação (IDEXX Vet, 2021b).

A avaliação dos gráficos de pontos também pode permitir verificar a presença de agregados plaquetários, algo muito comum especialmente na colheita de sangue em gatos, e pode ser confirmada através da presença de uma nuvem de pontos de cor azul-claro, ao longo do eixo do x, na porção mais inferior do eixo y, nos gráficos referentes à contagem de glóbulos brancos. Esta identificação não interfere na medição e classificação dos restantes componentes celulares representados graficamente, permitindo assim que possam ser avaliados mesmo em situações de presença de agregados plaquetários (IDEXX Vet, 2021b).

Gráfico 5. Gráfico de pontos normal, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One, de um canídeo**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

Gatos com hemoparasitas, nomeadamente micoplasmose, muitas vezes apresentam contagens de linfócitos que rondam os 4000 a 6000 linfócitos, assim o facto de as análises laboratoriais apresentarem valores de linfócitos dentro da normalidade não deve excluir um diagnóstico de hemoparasitas devendo ser realizada a sua confirmação (IDEXX Vet, 2021a).

4. Utilização de gráfico de pontos na classificação e auxílio do diagnóstico da anemia em gatos e cães

4.1. Introdução

A leitura e avaliação de gráficos de pontos, obtidos com a realização de hemogramas nos contadores hematológicos automáticos mais recentes, continua a ser subaproveitada pela maioria dos médicos veterinários, apesar de ser um recurso com potencial no auxílio na classificação da anemia, assim como na identificação de diversas alterações hematológicas, nomeadamente a presença de neutrófilos tóxicos, em situações clínicas onde a realização de esfregaços sanguíneos, por vezes, não é possível.

4.2. Objetivos

O presente trabalho visa demonstrar e exemplificar a utilidade da leitura e avaliação de gráficos de pontos, na classificação e diagnóstico do achado hematológico mais comum em clínica de pequenos animais, a anemia. Para tal, para além de uma breve caracterização estatística dos resultados, irão também ser expostos e descritos três casos clínicos escolhidos

da amostra e acompanhados pela autora, de forma a melhor exemplificar a utilidade dos gráficos de pontos obtidos com o analisador hematológico *ProCyte One** da IDEXX, para obter uma classificação mais célere da anemia, assim como auxiliar o seu diagnóstico.

4.3. Materiais e métodos

4.3.1. Amostra

Foram obtidas 32 amostras de animais que apresentam anemia, 19 gatos e 13 cães. Estas amostras foram recolhidas durante o período de estágio curricular, na clínica MyPet, na ilha de São Miguel, nos Açores. A estas amostras foram atribuídos números, de 1 a 19 na amostra de gatos, e de 20 a 32 na amostra de cães, de forma a facilitar a identificação dos mesmos. Todas as amostras foram obtidas através da colheita de sangue da veia jugular, realizadas pelo Médico Veterinário responsável e colocadas em tubos com ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), e homogeneizadas.

Dos 32 casos, foram selecionados 3, que foram acompanhados pela autora, de forma a melhor exemplificar a utilidade da análise dos gráficos de pontos obtidos pelo analisador hematológico. Na descrição destes casos clínicos foram tidos em consideração não só os exames hematológicos realizados, mas também o historial clínico disponível dos animais, assim como outros métodos complementares de diagnóstico que possam ter sido utilizados.

4.3.2. Aparelhos utilizados

Todas as amostras foram analisadas utilizando o analisador hematológico *Procyte One**, para a realização dos hemogramas. Em relação aos 3 casos aprofundados foram também utilizados o analisador bioquímico *Catalyst One** para a realização de todas as análises bioquímicas, as análises bioquímicas escolhidas foram o *Chem 10 CLIP*, que contém análises à albumina, rácio albumina/globulina, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, ureia sanguínea, rácio ureia/creatinina, creatinina, globulinas, glucose, proteína total, ou o *NSAID 6 CLIP*, que contém fosfatase alcalina, alanina aminotransferase aspartato aminotransferase, ureia, rácio ureia/creatinina e creatinina.

4.3.3. Determinação da percentagem de reticulócitos corrigida (CRP)

Foi calculada a CRP para todos os animais da amostra utilizando a sua fórmula.

Para felídeos foi utilizado um valor de HCT médio de 35%, enquanto, que para os canídeos foi utilizado um HCT médio de 45%, e utilizados *cut off* de 0,4% para gatos de 1% para cães na distinção entre anemia regenerativa e não regenerativa ou pré-regenerativa (eClinPath.com, s.d.c; eClinPath.com, s.d.a).

As anemias dos animais da amostra foram então classificadas como não regenerativas ou pré-regenerativas com base na diminuição ou aumento das nuvens de reticulócitos

presentes nos gráficos de pontos correspondentes aos seus hemogramas, e confirmadas com base nos valores de CRP calculados (eClinPath.com, s.d.b; eClinPath.com, s.d.a).

4.3.4. Gravidade das anemias

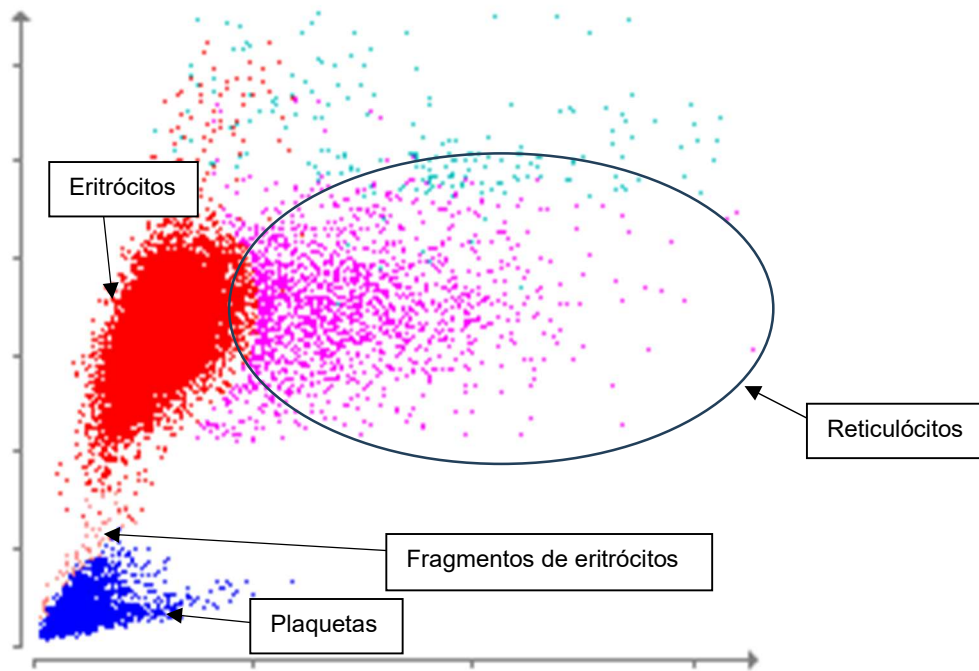
As anemias foram classificadas em anemia ligeira, moderada ou grave, com base nos valores do HCT, tendo como base os intervalos de referência presentes na tabela 2, assim como determinado o grau de regeneração da anemia de acordo com os intervalos de referência relativos à contagem absoluta de reticulócitos presentes na tabela 1 (eClinPath.com, s.d.b; eClinPath.com, s.d.a).

5. Resultados

5.1. Avaliação dos gráficos de pontos

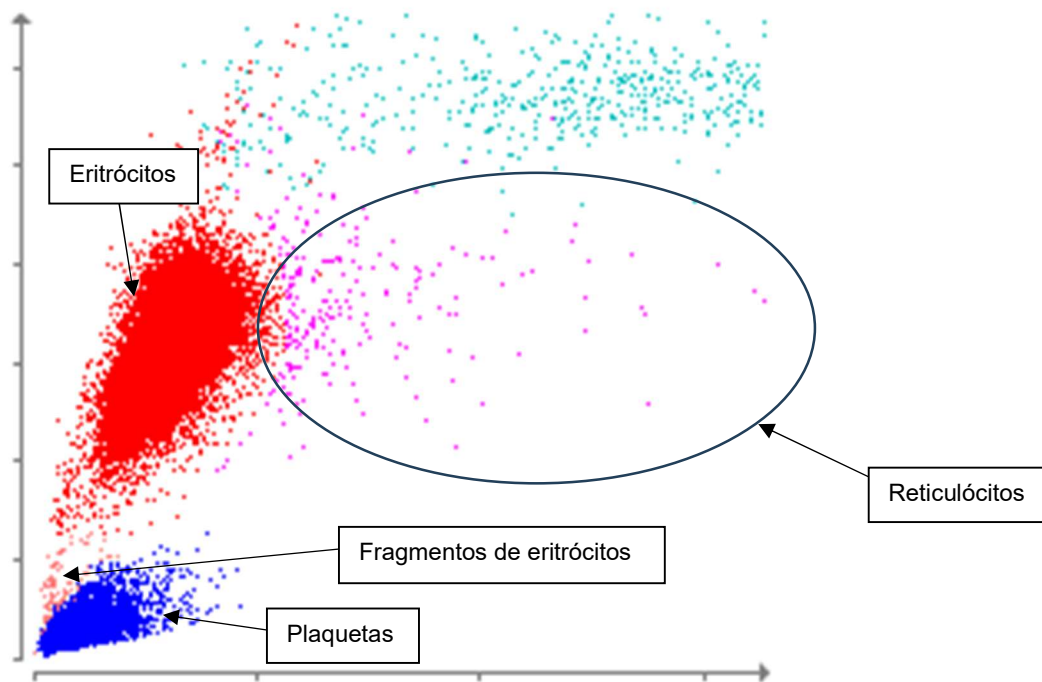
A avaliação dos gráficos de pontos foi realizada através de uma observação cuidadosa dos mesmos. A nuvem de eritrócitos apresenta-se representada a magenta. No gráfico 6, correspondente ao gráfico de pontos de um canídeo, podemos verificar que a nuvem de reticulócitos se encontra aumentada, já no gráfico 7, correspondente ao gráfico de pontos de outro canídeo da amostra, podemos visualizar uma nuvem de eritrócitos que se encontra diminuída, quase inexistente.

Gráfico 6. Gráfico de pontos, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, de um cão com anemia regenerativa**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

Gráfico 7. Gráfico de pontos, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, de um cão com anemia não regenerativa**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

Relativamente aos 19 gatos da amostra foi possível apurar que 18 destes apresentavam uma nuvem de reticulócitos diminuída, correspondendo assim a 94,7% (18/19) da amostra. Um dos gatos apresentava uma nuvem de reticulócitos normal, ou seja 5,3% (1/19) da amostra. Na população de gatos da amostra, ao contrário da de canídeos, nenhum apresentava uma nuvem de reticulócitos aumentada.

Tabela 3. Distribuição da amostra de gatos quanto à classificação da nuvem de reticulócitos em aumentada, diminuída e normal

	Frequência Absoluta	Frequência Relativa
Aumentada	0	0%
Diminuída	18	94,7%
Normal	1	5,3%
Total	19	100%

Em relação aos 13 canídeos da amostra, foi possível verificar que 2 dos 13 canídeos apresentavam um aumento da nuvem de reticulócitos, correspondendo a cerca de 15,4% (2/13) da amostra, já 10 apresentavam uma nuvem de reticulócitos praticamente inexistente, correspondendo assim a 76,9% (10/13) da amostra, enquanto 1 canídeo apresentava uma nuvem de reticulócitos de tamanho normal, ou seja 7,6% (1/13) da amostra.

Tabela 4. Distribuição da amostra de cães quanto à classificação da nuvem de reticulócitos em aumentada, diminuída e normal

	Frequência Absoluta	Frequência Relativa
Aumentada	2	15,4%
Diminuída	10	76,9%
Normal	1	7,6%
Total	13	100%

5.2. Cálculo do CRP

Em relação ao cálculo do CRP, é possível verificar na tabela 6 os resultados do cálculo do mesmo da amostra de 19 gatos, destes, 18 apresentavam valores abaixo de 0,4%. Já em relação à amostra de cães, os resultados do cálculo do CRP podem ser verificados na tabela 7, destes, 10 apresentavam valores abaixo de 1%, enquanto 2 apresentavam valores acima de 1%. Tanto na amostra de canídeos como felídeos cada uma apresentava um caso com valores de CRP no limiar entre não regenerativa e regenerativa. No grupo de estudo de felídeos a amostra 13 com um CRP de 0,4%, e na de canídeos a amostra 30 com um CRP de 1,2%.

Tabela 5. Valores do HCT, RBC, %Ret, RET, CRP e caracterização da nuvem de reticulócitos da população de gatos da amostra

Amostra	HCT	RBC	%Ret	RET	CRP	Nuvem de reticulócitos
1	24	6,38	0,1	8,7	0,069	Diminuída
2	24	5,73	0,1	7,5	0,069	Diminuída
3	20,8	5,55	0,1	6,2	0,059	Diminuída
4	23,3	5,04	0,1	3,2	0,067	Diminuída
5	29,2	7,31	0,1	6,6	0,083	Diminuída
6	22,2	4,46	0,2	10,1	0,127	Diminuída
7	24	5,22	0,2	10,5	0,137	Diminuída
8	21	5,27	0,1	5,4	0,060	Diminuída
9	28,8	6,48	0,1	8,9	0,082	Diminuída
10	26,7	6,02	0,3	15,9	0,229	Diminuída
11	17,5	4,49	0,4	17,9	0,200	Diminuída
12	26,6	6,68	0,1	8,5	0,076	Diminuída
13	12,9	3,27	1,1	37	0,405	Normal
14	21,5	4,51	0,1	5,7	0,061	Diminuída
15	20,9	3,19	0,5	16,9	0,299	Diminuída
16	27,2	6,3	0,1	4,6	0,078	Diminuída
17	24	5,53	0,1	5,6	0,069	Diminuída
18	27,8	7,13	0	2,6	0,000	Diminuída
19	26	5,09	0,2	10,3	0,149	Diminuída

Tabela 6. Distribuição da amostra de gatos quanto à classificação da anemia em regenerativa ou não regenerativa, com base no cálculo do CRP

	Frequência Absoluta	Frequência Relativa
Regenerativa	0	0%
Não Regenerativa	18	94,7%
Indeterminada	1	5,3%
Total	19	100%

Tabela 7. Valores do HCT, RBC, %Ret, RET, CRP e caracterização da nuvem de reticulócitos da população de cães da amostra

Amostra	Espécie	HCT	RBC	%Ret	RET	CRP	Nuvem de reticulócitos
20	Canídeo	31,4	4,66	1,3	59,9	0,907	Diminuída
21	Canídeo	36,1	5,81	0,4	23,8	0,321	Diminuída
22	Canídeo	37,2	5,54	0,2	13,5	0,165	Diminuída
23	Canídeo	26,6	4,46	0,2	9	0,118	Diminuída
24	Canídeo	34,8	6,12	0,3	15,6	0,232	Diminuída
25	Canídeo	14,9	2,05	0,7	14,4	0,232	Diminuída
26	Canídeo	19	4,83	7,7	371,7	3,251	Aumentada
27	Canídeo	28,9	4,93	0,3	16,1	0,193	Diminuída
28	Canídeo	35,8	5,76	1,2	69,6	0,955	Diminuída
29	Canídeo	34,8	4,21	0,4	17,6	0,309	Diminuída
30	Canídeo	14,8	2,53	3,5	87,8	1,151	Normal
31	Canídeo	26,2	4,19	6,9	288,8	4,017	Aumentada
32	Canídeo	33,6	5,63	0,8	44,6	0,597	Diminuída

Tabela 8. Distribuição da amostra de cães quanto à classificação da anemia em regenerativa ou não regenerativa, com base no cálculo do CRP

	Frequência Absoluta	Frequência Relativa
Regenerativa	2	15,4%
Não Regenerativa	10	76,9%
Indeterminada	1	7,6%
Total	13	100%

Em relação à determinação do grau de regeneração da anemia com base na RET, é possível verificar que em relação à população de felídeos todos os 19 animais da amostra apresentavam um grau de regeneração da anemia inadequado, uma vez que todos os animais apresentavam contagens inferiores a 61.000 reticulócitos/ μ L de sangue. Já em relação à população de canídeos da amostra, 11 apresentavam um grau de regeneração da anemia inadequado, ou seja, apresentavam contagens de reticulócitos inferiores a 92.000 reticulócitos/ μ L de sangue, enquanto que 1 animal apresentava um grau de regeneração marcado, ou seja, superior a 300.000 reticulócitos/ μ L de sangue, correspondente à amostra 26, que apresentava uma RET de 371.700 reticulócitos/ μ L de sangue e 1 apresentava um grau de regeneração moderado, isto é, uma RET entre 201.000 e 300.000 reticulócitos/ μ L de sangue, correspondente à amostra 31, que apresentava uma RET de 288.800 reticulócitos/ μ L de sangue.

5.3. Gravidade da anemia

Relativamente à classificação da anemia como ligeira, moderada ou grave foi possível apurar que da amostra de 19 gatos, 7 apresentavam uma anemia ligeira, correspondente a 36,8% (7/19) da amostra, 11 apresentavam anemia moderada, ou seja 57,9% (11/19) da amostra, enquanto 1 animal apresentava anemia grave, 5,3% (1/19) da amostra.

Tabela 9. Distribuição da amostra de gatos quanto à classificação da anemia quanto ligeira, moderada ou grave

	Frequência Absoluta	Frequência Relativa
Ligeira	7	36,8%
Moderada	11	57,9%
Grave	1	5,3%
N	19	100%

Avaliando os 13 canídeos presentes na amostra, 7 apresentavam anemia ligeira, 57,8% (7/13) da amostra, 3 anemia moderada, 23,1% (3/13) da amostra e 3 anemia severa, 23,1% (3/13) da amostra. Dos dois casos de anemia regenerativa presentes no grupo de canídeos um tratava-se de uma anemia severa enquanto o outro caso se tratava de uma anemia moderada.

Tabela 10. Distribuição da amostra de cães quanto à classificação da anemia quanto ligeira, moderada ou grave

	Frequência Absoluta	Frequência Relativa
Ligeira	7	53,8%
Moderada	3	23,1%
Grave	3	23,1%
N	13	100%

5.4. Casos Clínicos

De forma a melhor ilustrar a utilidade na prática clínica da interpretação dos gráficos de pontos foram escolhidos 3 casos clínicos a aprofundar, da amostra de 32 animais do estudo, correspondentes a dois cães (amostras 27 e 30) e um gato (amostra 9).

5.4.1. Caso clínico 1

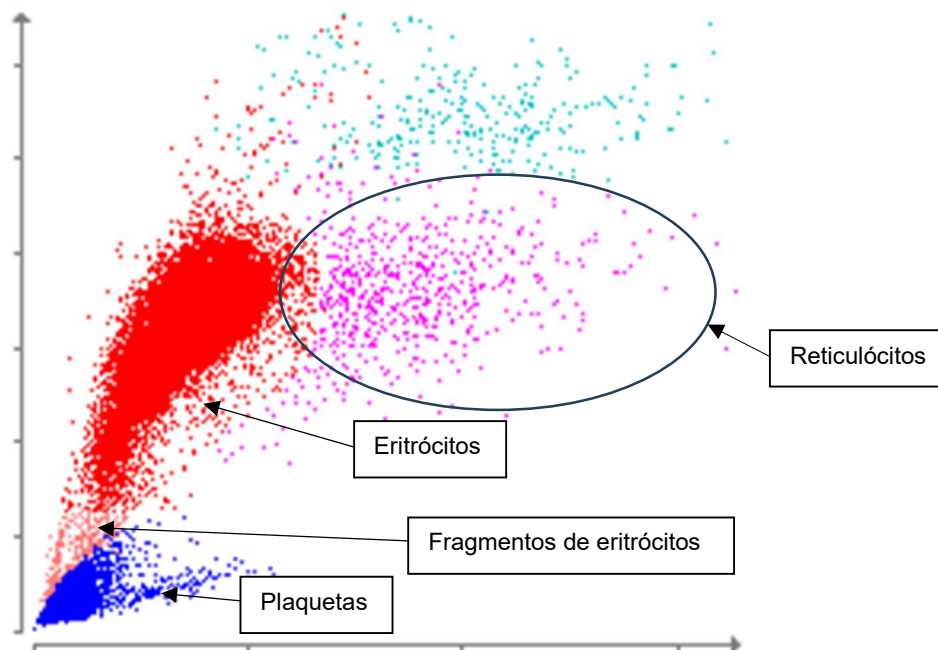
O primeiro caso clínico refere-se a um canídeo, com 7 anos, fêmea, esterilizada, de raça indeterminada. Este caso corresponde à amostra 30, do presente trabalho. No exame clínico verificou-se que as mucosas aparentavam estar mais pálidas. Foi realizado um hemograma,

e análises bioquímicas utilizando um *Chem 10 CLIP*. O hemograma apresentava anemia grave, com um Hct de 14.8%, com leucocitose, neutrofilia e monocitose. Calculando a CRP verificou-se que esta apresentava um valor de 1,15%. Tendo em conta o historial clínico e os valores do Hct houve de imediato a suspeita de ingestão de raticidas (cumarínicos). Ao quarto dia de tratamento foi repetido o hemograma e foi verificada uma pioria, observando-se um Hct de 12%, neste dia o animal ficou internado para transfusão sanguínea.

Foi também enviado um esfregaço sanguíneo para análise num laboratório de referência, os resultados deste esfregaço revelaram a presença de anemia moderada com policromasia, com presença de metarrubricitos e rubricitos basófilos, apresentava também uma trombocitose ligeira.

Observando os gráficos de pontos associados ao primeiro hemograma realizado verificamos que não há propriamente um aumento da nuvem de reticulócitos (gráfico 8), apresentando esta dimensões semelhantes às de um animal com um hemograma normal, isto pode dever-se a estarmos perante o início de uma anemia regenerativa em que os valores de reticulócitos ainda não atingiram o seu máximo ou em situações iniciais de anemia, em que ainda não se deu a depleção total do *pool* de reticulócitos de reserva. Uma vez que a anemia neste caso é severa é mais provável tratar-se de o início de uma anemia regenerativa.

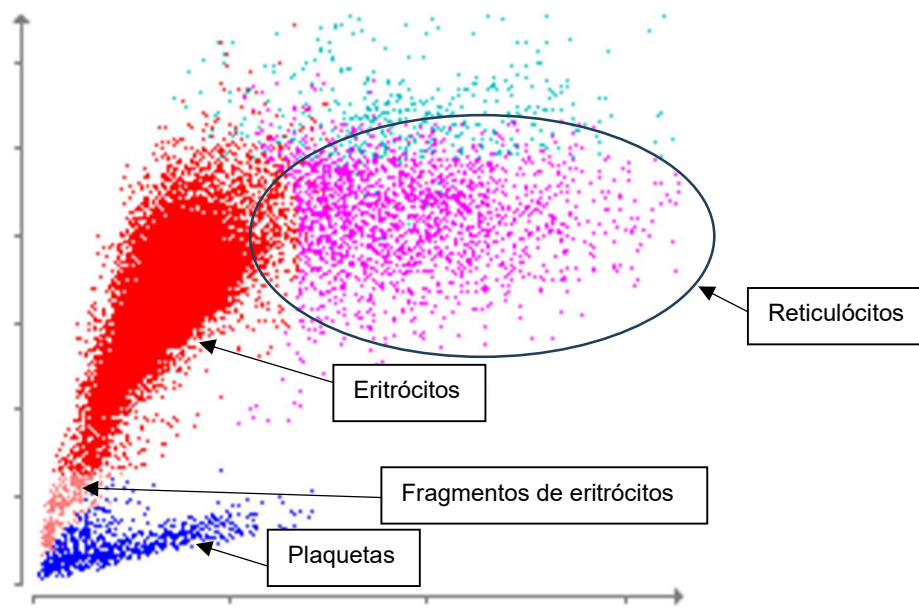
Gráfico 8. Primeiro gráfico de pontos obtido com o primeiro hemograma realizado ao cão do caso clínico 1, com o analisador hematológico *ProCyte One, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

Após a implementação da terapêutica adequada, o canídeo voltou no dia seguinte sendo realizado um novo hemograma, nesta segunda visita o animal apresentava-se mais ativo e tinha começado a comer novamente, desta vez o HCT apresentava melhorias, tendo subido para 16.3% e observando o gráfico de pontos correspondente a este segundo hemograma (gráfico 10), é possível verificar um aumento exuberante da nuvem de reticulócitos (a magenta), confirmando que estamos perante uma anemia regenerativa.

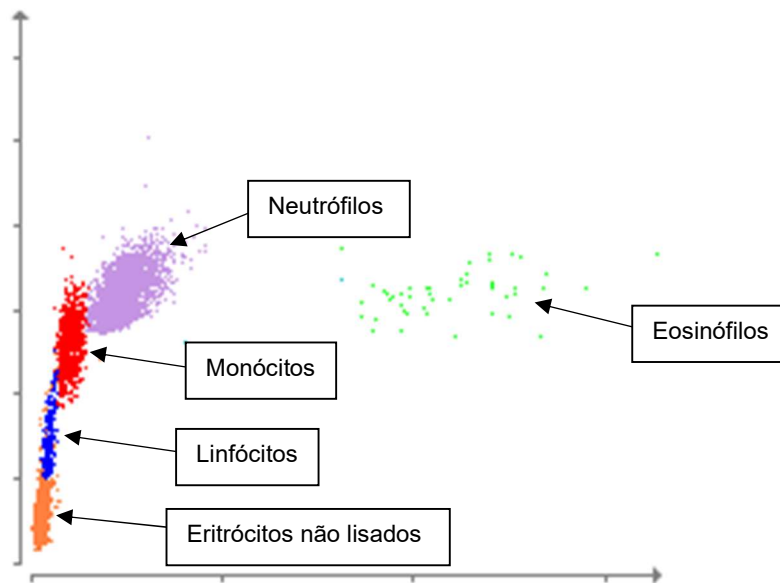
Gráfico 9. Segundo gráfico de pontos do cão do caso clínico 1, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

Apesar dos sinais numéricos de inflamação, não há sinais de presença de neutrófilos tóxicos ou de um desvio à esquerda, como se pode ver no gráfico de pontos correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias (gráfico 10), onde há uma separação clara das nuvens de populações celulares.

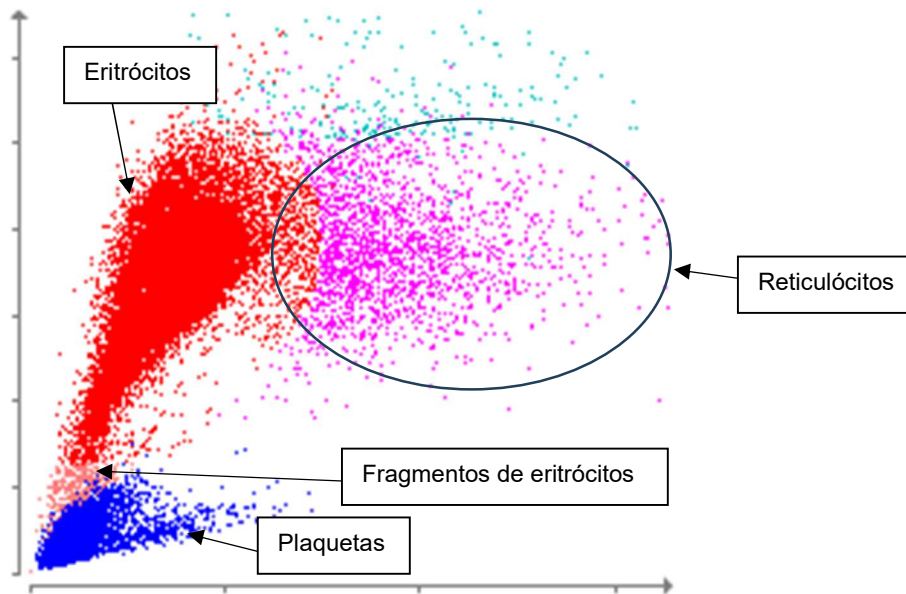
Gráfico 10. Gráfico de pontos obtido com o primeiro hemograma realizado ao canídeo referente ao caso clínico 1, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One, correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

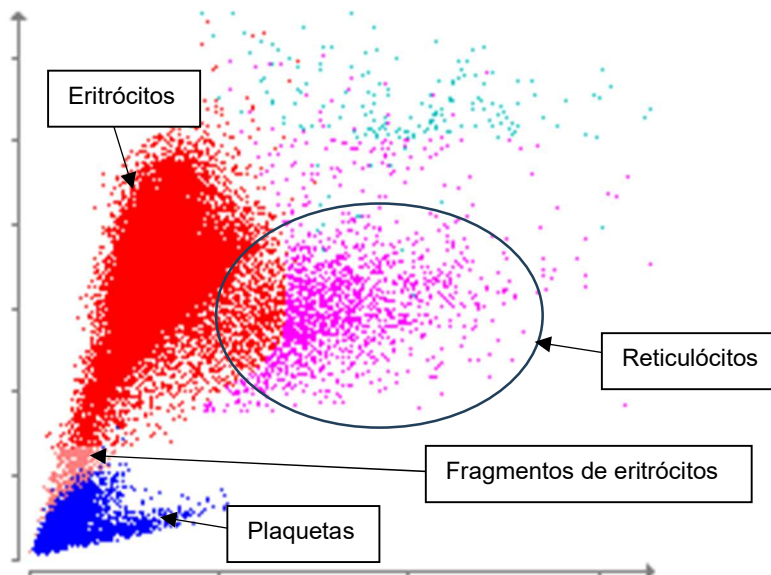
Ao analisarmos os gráficos de pontos relativos aos hemogramas obtidos ao longo dos 19 dias de tratamento deste animal podemos verificar uma movimentação da nuvem dos reticulócitos de mais à esquerda do eixo do x para mais à direita, para perto da nuvem de eritrócitos, como é possível visualizar nos gráficos 11 e 12. Isto deve-se ao facto de os reticulócitos mais imaturos serem maiores e apresentarem uma maior complexidade celular, e à medida que amadurecem vai havendo uma condensação gradual da cromatina nuclear e uma diminuição do seu tamanho, assemelhando-se cada vez mais a eritrócitos.

Gráfico 11. Terceiro gráfico de pontos do cão do caso clínico 1, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

Gráfico 12. Quarto gráfico de pontos do cão do caso clínico 1, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

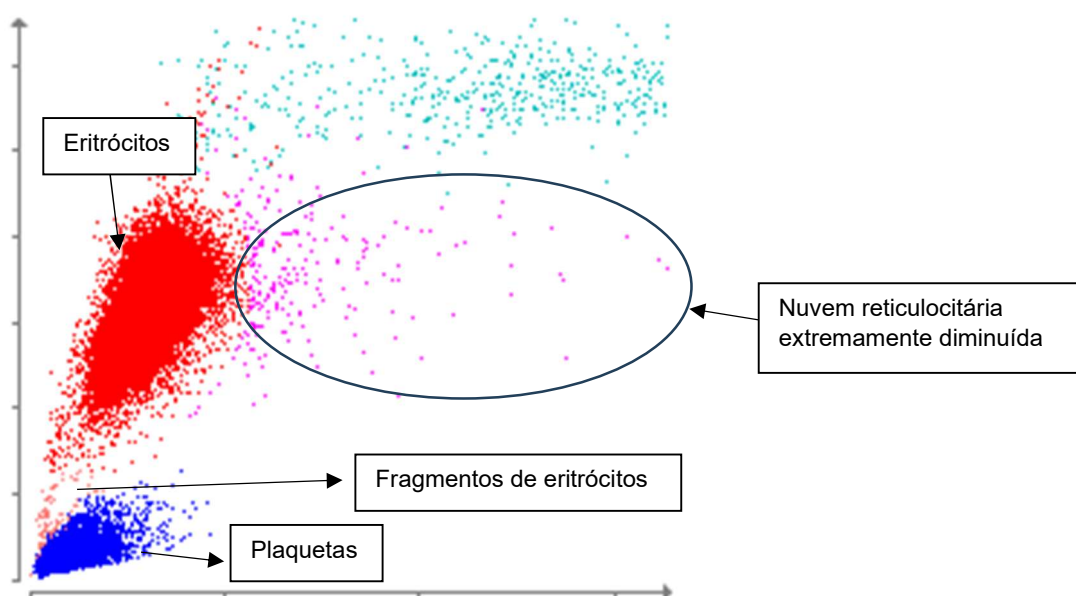
Os resultados do esfregaço sanguíneo enviado revelaram a presença de anemia moderada, assim como a presença de policromasia, metarrubricitos e rubricitos basófilos, o que coincide com a posição da nuvem de reticulócitos presente no gráfico de pontos, que se apresentava mais à direita do eixo do x precisamente devido à presença de reticulócitos mais imaturos.

5.4.2. Caso Clínico 2

O caso clínico 2 refere-se a um canídeo, fêmea, não esterilizada, de 14 anos, de raça indeterminada, correspondente à amostra 27, do presente trabalho. Ao exame físico foi detetado desconforto abdominal, mucosas pálidas, e uma temperatura normal. Foi então realizado um hemograma, assim como análises bioquímicas com um *NSAID 6 CLIP*, e uma *eco fast*. O hemograma apresentava sinais de anemia moderada, com um HCT de 28,8% e neutrofilia. A *eco fast* mostrou sinais compatíveis com piómetra. O animal foi então internado, sendo então realizada uma ovariectomia. Após a cirurgia o canídeo continuou prostrado, com anorexia, e mucosas pálidas, um novo hemograma revelou um HCT de 22,5%, foi realizado um teste de autoaglutinação que se revelou positivo, e foi iniciada então a correta farmacoterapia. 13 dias após a primeira consulta o animal regressa para reavaliação e realização de novo hemograma, verifica-se a presença de anemia crónica.

Já na situação do cão 2 estamos perante um animal mais velho, que apresentava uma anemia pré regenerativa ou não regenerativa, aquando da realização do primeiro hemograma, apresentando um CRP de 0,193%, muito inferior ao limite de 1% para distinção entre anemia regenerativa e não regenerativa em cães, e como é possível observar pelo gráfico de pontos associado (gráfico 13), relativo à classificação das linhas celulares eritrocitárias, que apresenta uma nuvem de reticulócitos bastante diminuída, e que se manteve diminuída ao longo do tratamento, podendo assim ser classificada como não regenerativa.

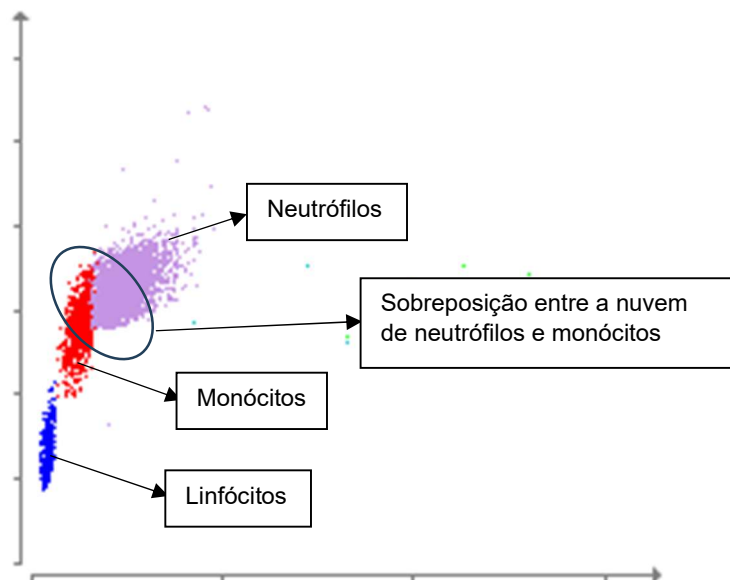
Gráfico 13. Gráfico de pontos relativo ao primeiro hemograma realizado ao cão do caso clínico 2, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

Para além disso, observando o gráfico de pontos correspondente às linhas leucocitárias (gráfico 14), vemos que há uma sobreposição entre a nuvem que representa os monócitos (a vermelho) e os neutrófilos (a lilás), que se torna ainda mais clara quando o comparamos com um gráfico de pontos referente à classificação das linhas celulares leucocitárias de um cão normal. Isto pode indicar que estamos perante um desvio à esquerda dos neutrófilos presentes, ou seja, que há a presença de neutrófilos imaturos em circulação que não estão a ser corretamente identificados como neutrófilos, para além disso esta sobreposição pode também ser um indicador da presença de neutrófilos tóxicos.

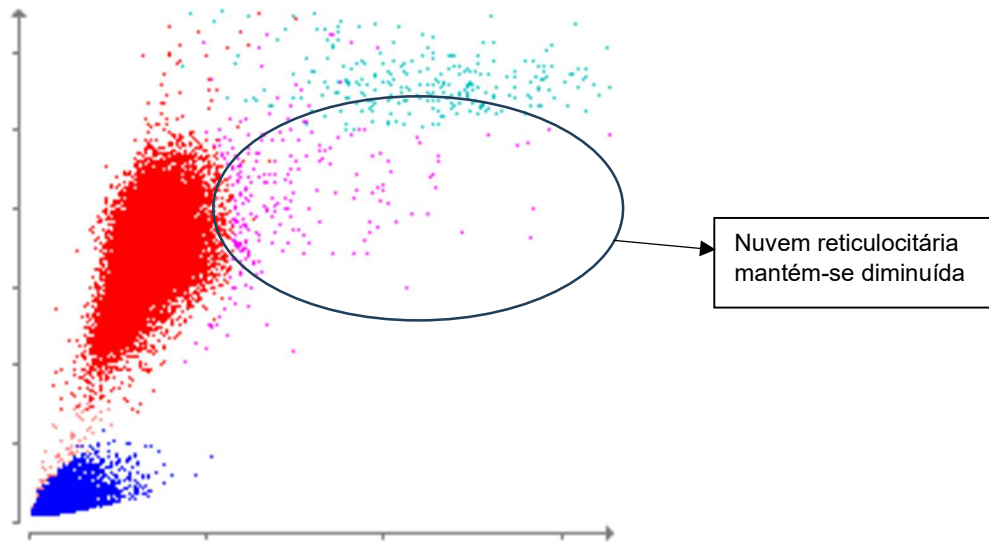
Gráfico 14. Gráfico de pontos correspondente a um dos hemogramas realizado ao canídeo referente ao caso clínico 2, obtido com o analisador hematológico *ProCyte One, correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

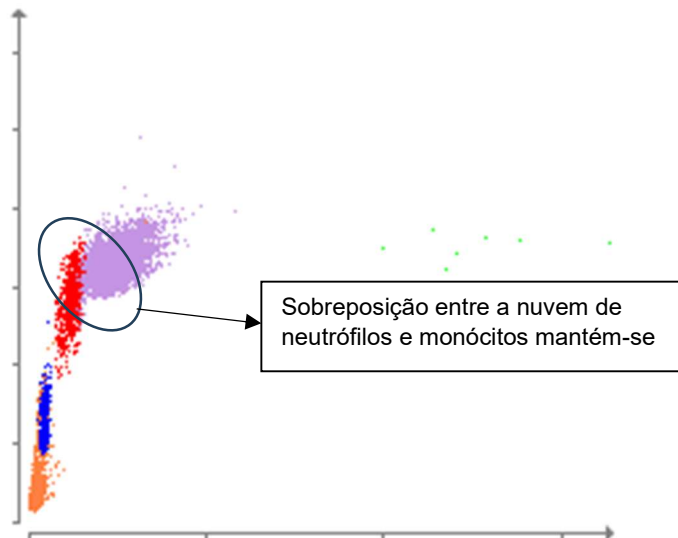
Com a resolução cirúrgica da piómetra, assim como a antibioterapia instituída seria de esperar uma melhoria nos valores do HCT, assim como um aumento da nuvem de reticulócitos compatíveis com a resolução de uma anemia com infeção subjacente, o que não se verificou como é possível ver pelos gráficos de pontos abaixo (gráficos 16 e 17), realizados ao longo do tratamento do canídeo 2, e que demonstram que a nuvem de reticulócitos se mantém diminuída e que continua a haver uma sobreposição entre as nuvens de neutrófilos e monócitos. Foi assim possível classificar a anemia do cão do caso clínico 2 como anemia de doença inflamatória crónica, e encontrar a sua verdadeira causa subjacente, neste caso uma neoplasia, um tumor mamário.

Gráfico 15. Gráfico de pontos correspondente ao último hemograma realizado ao cão do caso clínico 2, com o analisador hematológico *ProCyte One, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

Gráfico 16. Gráfico de pontos correspondente ao último hemograma realizado ao canídeo referente ao caso clínico 2, com o analisador hematológico *ProCyte One, correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias**



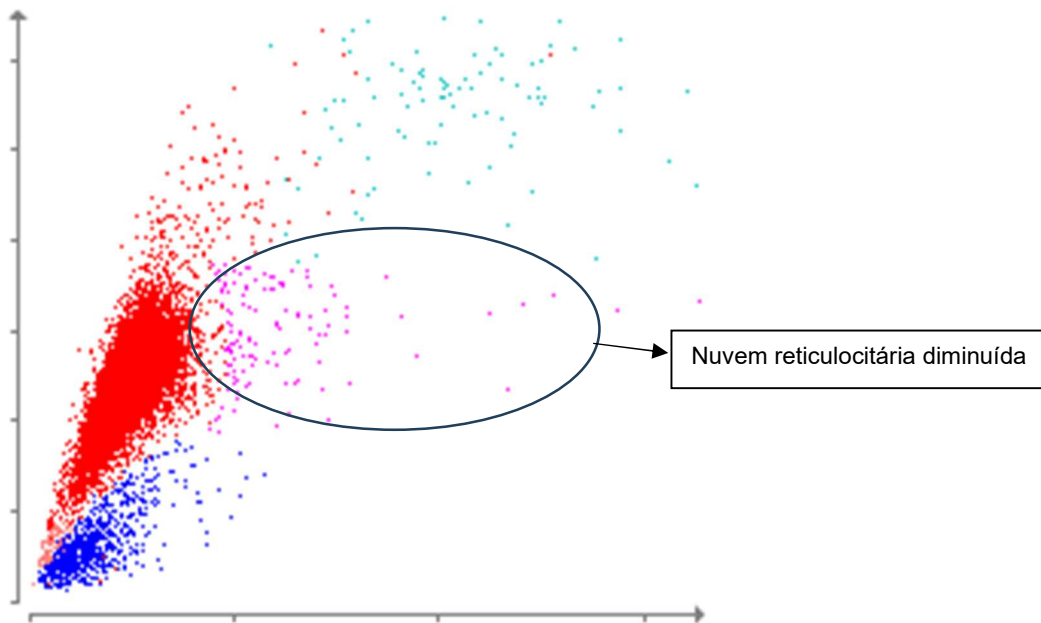
O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

5.4.3. Caso Clínico 3

Por fim, o terceiro caso clínico a abordar expõe o caso de um felídeo, fêmea, não castrada, com 3 anos, de raça indeterminada, correspondente à amostra 9, do presente trabalho. Foi realizado um hemograma, que apresentava um Hct de 28.8%, ou seja, uma anemia ligeira, e mais nenhuma alteração. O CRP calculado foi de 0,082%. De acordo com a presença de uma anemia não regenerativa, associada ao historial clínico de prostração foi realizado um esfregaço sanguíneo que revelou a presença de hemoparasitas.

Analisando o gráfico de pontos associado (gráfico 18), onde podemos observar que a nuvem correspondente aos reticulócitos (a magenta), é quase inexistente sendo possível inferir de que se trata de uma anemia não regenerativa, o que é confirmado pelo CRP de 0.082%, valor abaixo do limite de 0,4% para classificação da anemia como regenerativa ou não regenerativa em gatos. A presença de sinais clínicos graves, associada a um HCT de 28.8%, compatível com uma anemia ligeira sugere que se trata de um processo agudo. Este gato apresentava ainda valores de linfócitos dentro dos valores de referência, o que não deve excluir um diagnóstico de hemoparasitas, uma vez que é comum em gatos com micoplasmose terem sinais clínicos graves, mas contagens de linfócitos na casa dos 4, 5 ou 6000 linfócitos.

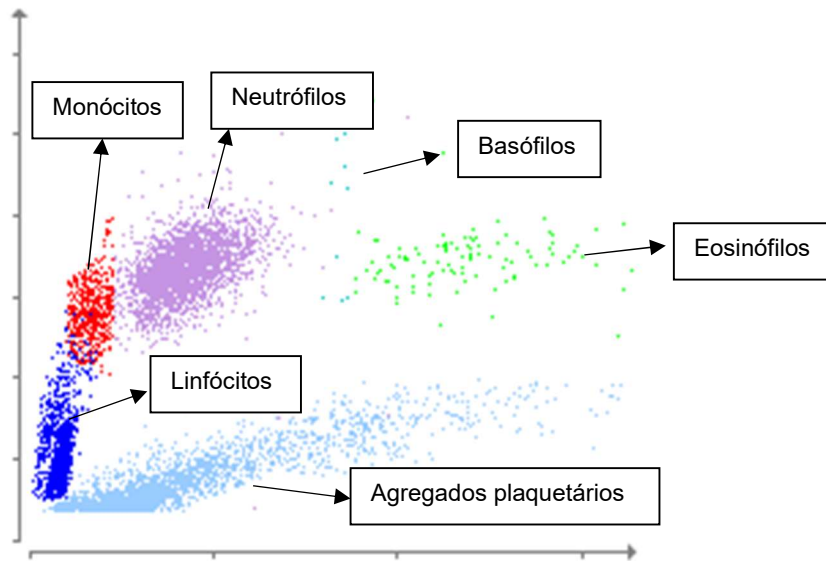
Gráfico 17. Gráfico de pontos relativo ao hemograma do felídeo do caso clínico 3, com o analisador hematológico *ProCyte One, correspondente à classificação das linhas celulares eritrocitárias**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

Ainda relativamente ao felídeo do caso clínico 3, como se pode verificar pelo gráfico 19, também é possível e fácil a identificação de problemas na colheita de sangue, como a presença de agregados plaquetários, algo muito comum na colheita de sangue em gatos, e se pode verificar pela presença de uma nuvem de pontos de cor azul-claro, ao longo do eixo do x, na porção mais inferior do eixo y.

Gráfico 18. Gráfico de pontos correspondente à classificação das linhas celulares leucocitárias, do felídeo do caso clínico 3, com o analisador hematológico *ProCyte One**



O eixo y representa o tamanho das células e o eixo x a complexidade.

6. Discussão

Da amostra de 32 animais 2 destes apresentavam um aumento da nuvem de reticulócitos, o que é indicativo da presença de anemia regenerativa, enquanto 28 dos animais da amostra exibiam uma nuvem de reticulócitos praticamente inexistente, o que é compatível com uma anemia não regenerativa ou pré regenerativa. Isto mostra a facilidade e rapidez com que se pode classificar enquanto regenerativa ou não regenerativa/ pré-regenerativa a anemia observando apenas os gráficos de pontos obtidos aquando da realização do hemograma dos animais.

Foi possível averiguar, através dos dados obtidos, e da análise dos gráficos de pontos dos 32 animais da amostra, assim como dos valores dos hemogramas e do CRP que tanto na amostra de gatos como de cães, a classificação da nuvem de reticulócitos em aumentada, diminuída e normal, coincide com a classificação da anemia em regenerativa, não regenerativa e indeterminada obtida através do cálculo manual do CRP, na totalidade da amostra. Ou seja, 94,7% da amostra de gatos apresentava uma diminuição da nuvem de reticulócitos assim como um CRP inferior a 0,4%, 5,3% da amostra de gatos apresentava uma nuvem de reticulócitos de dimensões normais e um CRP de cerca de 0,4%. O mesmo ocorreu na amostra de canídeos, 15,4% apresentavam uma nuvem de reticulócitos aumentada, assim como um CRP superior a 1%, 76,9% apresentava uma nuvem de reticulócitos diminuída e um CRP inferior a 1%, e por fim 7,6% normal e um CRP de aproximadamente 1%. Deste modo, na amostra em estudo, a avaliação visual da nuvem de reticulócitos verificou-se como um método mais rápido, mas igualmente eficaz para averiguar o nível de regeneração da anemia.

Em relação aos casos clínicos escolhidos, para além da célere classificação da anemia, verificou-se que a utilização da análise dos gráficos de pontos se mostrou vantajosa na identificação da presença de neutrófilos tóxicos, indicativa da presença de infeção subjacente, no caso clínico 1, numa situação onde a realização de esfregaço sanguíneo em laboratório de referência não era possível. Já no caso clínico 2 foi possível verificar a presença de reticulócitos imaturos em circulação, confirmada pela realização de esfregaço sanguíneo num laboratório de referência. No caso clínico 3, a análise dos gráficos de pontos permitiu identificar a presença de agregados plaquetários, que de outra forma poderiam passar despercebidos.

O presente estudo foi realizado tendo em conta o Médico Veterinário da clínica de pequenos animais e as limitações que muitas vezes enfrenta, quer em termos económicos, quer em termos de tempo e recursos, desta forma, a avaliação dos gráficos de pontos foi realizada de forma extremamente acessível, recorrendo apenas à observação dos mesmos pela autora. A fim de realizar um estudo mais completo, seria interessante que esta avaliação fosse realizada por vários indivíduos, assim como estabelecidos parâmetros de medição das nuvens de pontos, tais como o seu comprimento e largura, assim como a densidade de pontos.

Este estudo foi também realizado com uma amostra extremamente limitada de animais, de apenas uma clínica veterinária e utilizando apenas um contador hematológico automático, de forma a que seria pertinente a realização de um estudo mais compreensivo, utilizando uma amostra maior e abrangente a mais clínicas veterinárias ao longo do país, assim como de vários equipamentos de contagem hematológica automática, de preferência até, de diferentes marcas, para comparação dos mesmos.

7. Conclusão

O presente estudo teve como objetivo a demonstração da utilidade clínica dos gráficos de pontos como meio auxiliar de diagnóstico na classificação da anemia.

Em relação à classificação da anemia como regenerativa ou não regenerativa com base no tamanho da nuvem de reticulócitos presentes nos gráficos de pontos referentes aos hemogramas dos animais da amostra, esta mostrou-se concordante com a classificação obtida tanto com os resultados do cálculo do CRP em todos os 32 animais da amostra, assim como com a classificação com o grau de regeneração da anemia com base no RET.

Assim nestas 32 amostras, a observação da nuvem de reticulócitos presente nos gráficos de pontos revelou-se suficiente para a classificação da anemia como regenerativa ou não regenerativa.

A utilização dos gráficos de pontos obtidos com os novos analisadores hematológicos de citometria de fluxo, neste caso com o modelo *Procyte One** da IDEXX pode fornecer

informações valiosas e acelerar a classificação da anemia como regenerativa ou não regenerativa/pré-regenerativa, evitando ter de se utilizar o cálculo da CRP que por si só tem as suas limitações, uma vez que se assume o HCT normal de cada animal, o que pode não corresponder à realidade, e idealmente seria utilizado o valor do HCT do próprio animal de um hemograma prévio normal, assim como a identificação de outras alterações nos hemogramas dos animais que são difíceis ou impossíveis de verificar apenas com os valores obtidos. Esta informação é bastante pertinente na prática clínica, particularmente em situações em que a realização de esfregaços sanguíneos são é possível.

De forma a ser realizado um estudo mais completo e com uma amostra mais robusta, seria interessante a execução de um inquérito de forma a averiguar a nível nacional quantas clínicas possuem efetivamente estes equipamentos de citometria de fluxo de bancada que fornecem gráficos de pontos, e se os médicos veterinários utilizam habitualmente estes gráficos como método auxiliar e complementar de diagnóstico.

8. Bibliografia

- Anónimo. (2022). *IDEXX ProCyte One* hematology analyser operator's guide* (pp. 5–12). IDEXX Laboratories, Inc.
- Borjesson, D. L., & Overmann, J. A. (2022). Stem cell biology. In M. B. Brooks, K. E. Harr, D. M. Seelig, K. J. Wardrop, & D. J. Weiss (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (7th ed., pp. 9–17). Wiley Blackwell.
- Burton, A. G., Harris, L. A., Owens, S. D., & Jandrey, K. E. (2014). Degenerative Left Shift as a Prognostic Tool in Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(3), 912–917. <https://doi.org/10.1111/jvim.12338>
- Car, B. D., & Seelig, D. M. (2022). The hematopoietic system. In M. B. Brooks, K. E. Harr, K. J. Wardrop, & D. J. Weiss (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (7th ed., pp. 27–36). Wiley Blackwell.
- Couto, C. G. (2016). How to milk info out of your hematology analyzer. *2016 NACV Small Animals and Exotics Proceedings*, 227–228.
- Couto, C. G. (2019). Anemia. In R. W. Nelson & C. Guillermo Couto (Eds.), *Small animal internal medicine* (6th ed., pp. 1340–1359). Elsevier.
- eClinPath.com. Cornell University. (s.d.a). *Absolute retic count*. [acedido em 2025 Maio 20] [Absolute retic count | eClinpath](#)
- eClinPath.com. Cornell University. (s.d.b). *Anemia*. [acedido em 2025 Maio 20] [Anemia | eClinpath](#)
- eClinPath.com. Cornell University. (2024, fevereiro 11). *Case #1 2024*. [acedido em 2025 Maio 17] [Case #1 2024 | Page 2 of 2 | eClinpath](#)
- eClinPath.com. Cornell University. (s.d.c). *Regeneration*. [acedido em 2025 Maio 20] [Regeneration | eClinpath](#)
- Grzelak, A. K., & Fry, M. M. (2022). Anemia of inflammatory, neoplastic, renal, and endocrine diseases. In M. B. Brooks, K. E. Harr, K. J. Wardrop, & D. J. Weiss (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (7th ed., pp. 313–317). Wiley Blackwell.
- IDEXX Vet. (2021a, outubro 29). IDEXX | MARATÓN DE HEMATOLOGÍA | Clase 1 - Los Leucocitos. Youtube [vídeo]. <https://youtu.be/TQUOL6WQLw0?si=bU-YWjuxYwU0rnO>
- IDEXX Vet. (2021b, dezembro 16). IDEXX | MARATÓN DE HEMATOLOGÍA | Clase 3 - Descifrando los Hemogramas [vídeo]. Youtube. <https://youtu.be/5ZbNRdG69sE?si=lyYp-liocxEVB4ka>
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2013a). Células do sangue. In *Histologia básica* (12th ed., pp. 217–232). Editora Guanabara Koogan.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2013b). Hemocitopoese. In *Histologia básica* (12th ed., pp. 233–250). Editora Guanabara Koogan.

Kolkka, S. (2016). Battle of the anemias: regenerative vs. nonregenerative, acute vs. chronic, hemolytic vs. hemorrhagic. *2016 NACV Small Animals and Exotics Proceedings*, 114–115.

Levine, D. N., & Andreasen, C. B. (2022). Neutrophil function and response. In M. B. Brooks, K. E. Harr, D. M. Seelig, K. J. Wardrop, & D. J. Weiss (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (7th ed., pp. 339–346). Wiley Blackwell.

McCoy, J. P. (2002). Basic principles of flow cytometry. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 16(2), 229–243. [https://doi.org/10.1016/S0889-8588\(01\)00015-6](https://doi.org/10.1016/S0889-8588(01)00015-6)

McKinnon, K. M. (2018). Flow cytometry: an overview. *Current Protocols in Immunology*, 120(1). <https://doi.org/10.1002/cpim.40>

Mills, J. (2012). Anaemia. In M. J. Day & B. Kohn (Eds.), *BSAVA manual of canine and feline haematology and transfusion medicine* (2nd ed., pp. 31–44). British Small Animal Veterinary Association.

Olver, C. S. (2022). Erythropoiesis. In M. B. Brooks, K. E. Harr, D. M. Seelig, K. J. Wardrop, & D. J. Weiss (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (7th ed., pp. 151–157). Wiley Blackwell.

Pires dos Santos, A., & Christian, J. A. (2022). Erythrokinetics and erythrocyte destruction. In M. B. Brooks, K. E. Harr, D. M. Seelig, K. J. Wardrop, & D. J. Weiss (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (7th ed., pp. 172–180). Wiley Blackwell.

Powell, R., & Torrance, A. (2012). Introduction to haematological diagnostic techniques. In M. J. Day & B. Kohn (Eds.), *BSAVA manual of canine and feline haematology and transfusion medicine* (2nd ed., pp. 1–20). British Small Animal Veterinary Association.

Radcliff, G., & Jaroszeski, M. J. (1998). Basics of flow cytometry. In *Flow cytometry protocols* (pp. 1–24). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/0-89603-354-6:1>

Stockham, S. L., & Scott, M. A. (2008). Leucocytes. In *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology* (2nd ed., pp. 53-106). Blackwell Publishing.

Stokol, T. (2017). Anemia, erythrocytosis. In S. J. Ettinger, E. C. Feldman, & E. Côté (Eds.), *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and the cat* (8th ed., Vol. 1, pp. 740–749). Elsevier.

Tvedten, H. (2022). Classification and laboratory evaluation of anemia. In M. B. Brooks, K. E. Harr, D. M. Seelig, K. J. Wardrop, & D. J. Weiss (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (7th ed., pp. 198–208). Wiley Blackwell.

9. Anexos

Anexo 1. Resumo da casuística e das atividades que foram desenvolvidas durante o estágio

Procedimentos		Total
Cirurgia	Biópsia de Linfonodos	2
	Biópsia hepática por laparotomia	1
	Biópsia intestinal (jejuno)	1
	Biópsia de bexiga por laparotomia	1
	Castração de cão	6
	Castração de coelho	2
	Castração de gato	34
	Cistotomia	1
	Monitorização anestésica	30
	OVH cadela	6
	OVH gata	23
	Cesariana cadela	1
	Destartarização	4
	Extração Dentária	3
Colheita de amostras	Cistocentese ecoguiada	21
	Citologia aspirativa	7
	Citologia de urina	3
	Citologia ecoguiada fígado	1
	Citologia não aspirativa	2
	Citologia vaginal	1
	Colheita de sangue	39
Outros	Acondicionamento de amostras	7
	Administração de gotas oculares	8
	Administração IM	22
	Administração IV através de torneira de 3 vias	37
	Administração Oral	13
	Administração SC	20
	Algaliação cão	4
	Algaliação gato	8
	Alimentação forçada com recurso a seringa	4

	Aplicação de dispositivos de monitorização contínua de glucose em gato	2
	Cateterização	57
	Consulta de cão e gato	153
	Consulta de exóticos	8
	Consulta de reavaliação	23
	Contenção para limpeza de feridas	2
	Contenção para administração de quimioterapia	2
	Contenção para cateterização	13
	Contenção para colheita de sangue	56
	Contenção para ecografia	16
	Contenção para realização de penso	5
	Contenção para realização de raio-x	16
	Corar lâminas método Diff Quick	7
	Corte de unhas cão	3
	Corte de unhas gato	2
	Desparasitação	23
	Drenagem de abcesso	4
	Drenagem de sacos anais	2
	Ecografia abdominal cão	31
	Ecografia abdominal gato	23
	Ecografia torácica	7
	Electroquimioterapia em gato CCE	3
	Entubação endotraqueal	23
	Eutanásia	3
	Exame neurológico	1
	Limpeza pavilhão auricular	5
	Observação microscópica de citologia	4
	Observação microscópica de esfregaço sanguíneo	14
	Penso	8
	Preparação de medicação injetável	63
	Primovacinação	8
	Prova de aglutinação	1
	Radiografia torácica	7

	Radiografia lombar	5
	Radiografia membro	4
	Raspagem cutânea	1
	Realização esfregaço sanguíneo	11
	Realização de curva de glucose	2
	Remoção de cateter	12
	Remoção de pontos	3
	Tala	4
	Toracocentese ecoguiada	10
	Vacinação	47