

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 15 (8)

August 2022

DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/15820221562>

Article link: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1562>



Diagnóstico de *Hepatozoon* spp em jaguatirica (*Leopardus pardalis*) por capa flogística e alterações laboratoriais - Relato de caso

Diagnosis of *Hepatozoon* spp in ocelot (*Leopardus pardalis*) by phlogistic layer and laboratory alterations found - Case report

Aline Fernandes Soares

Universidade Federal de Mato Grosso
alinefernandessr@gmail.com

Ygor Garcia de Oliveira

Universidade Federal de Mato Grosso

Marines Silva de Jesus

Universidade Federal de Mato Grosso

Ana Paula Rodrigues de Almeida

Universidade Federal de Mato Grosso

Keytiane de Oliveira

Universidade Federal de Mato Grosso

Evelyn Barbosa Araujo

Universidade Federal de Mato Grosso

Alessandra Kataoka

Universidade Federal de Mato Grosso

Resumo: O *Hepatozoon* é um parasita do subfilum apicomplexa, que infecta inúmeras espécies animais, e causa uma doença denominada hepatozoonose. O presente relato tem como objetivo apresentar o achado laboratorial do protozoário em uma jaguatirica (*Leopardus pardalis*) atendida no hospital veterinário da UFMT do *campus* de Sinop, bem como relatar os parâmetros hematológicos e bioquímicos encontrados. O agente transmissor e patogenia ainda não estão bem definidos, e não há relatos de sinais clínicos e hematológicos associados em felinos selvagens. A jaguatirica foi encontrada no município de Confresa com suspeita de atropelamento ou lesão por projétil, e resgatada pela SEMA, passou por sedação para avaliação e realização de exames complementares. O diagnóstico de hepatozoonose se deu através da capa flogística, onde foram encontrados gamontes do gênero no interior de neutrófilos.

Palavras-chave: hemoparasitas, felinos selvagens, hematologia.

Abstract: The hepatozoon is a parasite of the subphylum apicomplexa, which infects numerous animal species, and causes a disease called hepatozoonosis. The present report aims to present the laboratory finding of the protozoan in an ocelot (*Leopardus pardalis*) treated at the veterinary hospital of UFMT on the Sinop campus, as well as to report the hematological and biochemical parameters found. The transmitting agent and pathogenesis are still not well defined, and there are no reports of associated clinical and hematological signs in wild cats. The ocelot was found in the municipality of Confresa with suspicion of being run over or injured by a projectile, and rescued by SEMA, underwent sedation for evaluation and complementary exams. The diagnosis of hepatozoonosis was made through the phlogistic layer, where gamonts of the genus were found inside neutrophils.

Keywords: hemoparasites, wild cats, hematology.

Introdução

O *Hepatozoon* é um protozoário que pertence ao subfilo Apicomplexa, e pode infectar inúmeras espécies animais, como mamíferos, aves, répteis e anfíbios e já foi relatado em algumas espécies de felídeos selvagens por Metzger et al. (2008), Cubas et al. (2014), Braz e Umeda (2015), e Furtado et al. (2017).

Acredita-se que o primeiro relato de hepatozoonose em felinos ocorreu na Índia no início de 1900 em um gato doméstico (PATTON, 1908). Há relatos da infecção em felinos domésticos na Luanda e Angola (OLIVEIRA et al., 2018), África do Sul (HARRIS et al., 2019), Alemanha (SCHÄFER et al., 2021), e Grécia (MORELLI et al., 2021), e selvagens nos Estados Unidos em lincos (ALLEN et al., 2011), na Coreia do Sul em gato leopardo (CUBAS et al., 2014), na África do Sul em leopardos (AS et al., 2020), entre outros.

No Brasil acredita-se que o primeiro relato em felídeos neotropicais seja o de Metzger et al. (2008) em que amostras de 29 felinos selvagens foram coletadas, para avaliação microscópica direta e molecular, onde cinco dos animais foram positivos, sendo quatro deles jaguatiricas. Os casos mais recentes de hepatozoonose em felinos selvagens descritos foram no Mato Grosso do Sul em jaguatirica (BRAZ; UMEDA, 2015), e de 29 onças do Pantanal, Cerrado e Amazônia (FURTADO et al., 2017).

A doença ocorre pela ingestão do artrópode hematófago (hospedeiro definitivo) contendo oocistos (CUBAS et al., 2014). Os vetores podem ser carrapatos, ácaros, mosquitos-pólvora, moscas-tsé tsé, pulgas, piolhos, e sanguessugas, entre outros (TAYLOR et al., 2017), porém em felinos domésticos e selvagens não está bem definido (Metzger et al., 2008; Cubas et al., 2014; Morelli et al., 2020). O vetor do *Hepatozoon* em cães domésticos é o carrapato que é infectado por repasto sanguíneo, e os cães ao ingerirem o artrópode, tem os oocistos liberados infectando leucócitos e células endoteliais musculares, e dos órgãos como fígado, pulmões e medula óssea, formam cistos que possuem macro e micromerontes que amadurecem e se transformam em gamontes e são fagocitados por leucócitos (NELSON; COUTO, 2015).

Embora o ciclo evolutivo do *Hepatozoon* que afeta felinos não seja conhecido, Taylor et al. (2017) descrevem que o gênero compartilha um ciclo evolutivo básico que inclui desenvolvimento sexuado e esporogonia no hospedeiro definitivo invertebrado hematófago e merogonia, seguida de gametogonia, no hospedeiro intermediário vertebrado.

A doença geralmente é diagnosticada de forma subclínica, e é mais comumente descrita em caninos domésticos. Em felinos domésticos e selvagens ocorre raramente, e sem sinais clínicos associados de acordo com Metzger et al. (2008), Furtado et al. (2017), Cubas et al. (2014).

Kubo, Miyoshi e Yasuda (2006), Furtado et al. (2017) e Khoshnegah et al. (2012) sugerem que felinos imunocomprometidos e com coinfeções possam ter piora no quadro clínico.

O diagnóstico de hepatozoonose pode ser realizado por diferentes técnicas como a PCR e sequenciamento genético (OLIVEIRA et al. 2018; HARRIS et al. 2019; SCHÄFER, et al. 2021), imunohistoquímica (KUBO; MIYOSHI; YASUDA, 2006), imunofluorescência indireta (IFAT), western blot, biópsia tecidual e ELISA (AGUIAR, et al. 2004), análise microscópica dos gamontes em leucócitos (BRAZ E UMEDA, 2015), porém as técnicas moleculares são as mais indicadas devido a alta sensibilidade e especificidade.

O objetivo deste trabalho é expor o achado e os parâmetros hematológicos e bioquímicos encontrados em uma jaguatirica de vida livre, já que há poucos relatos desta enfermidade em felinos selvagens e o impacto da doença na saúde das jaguatiricas.

Material e métodos

No dia 3 de agosto de 2021 foi atendida e internada no setor de silvestres do hospital veterinário da UFMT, uma jaguatirica (*Leopardus pardalis*) fêmea, adulta, de vida livre que foi resgatada pela Secretaria de Estado do Meio Ambiente (SEMA) no município de Confresa-MT, a suspeita inicial dos médicos veterinários responsáveis pelo atendimento, era de atropelamento ou lesão por projétil.

No dia 8 de setembro a mesma foi sedada para realização do exame clínico e exames complementares (RX e exames laboratoriais). Durante o exame físico foi observado uma lesão circular em região proximal caudal de membro pélvico esquerdo e escoriações em região de escápula e abdômen. Os parâmetros encontrados foram: Temperatura corpórea (38,5°C), frequência respiratória (52 rpm), e frequência cardíaca (144 bpm).

Logo após a colheita, as amostras de sangue total com anticoagulante ácido etilendiaminotetracético (EDTA), e sem anticoagulante (com ativador de coágulo) foram encaminhadas ao laboratório, para análise de hemograma, pesquisa de hematozoários e bioquímicos (alanina aminotransferase, creatinina, ureia, fosfatase alcalina, gama glutamil transferase, proteínas totais e albumina).

Para o hemograma a amostra com anticoagulante (EDTA) foi analisada macroscopicamente para verificar a viabilidade e descartar a presença de fibrinas, coágulos, e pelos. Posteriormente, foi passada no analisador hematológico (MINDRAY®) na opção de felinos, foi realizado o preenchimento do capilar de microhematócrito, e a confecção do esfregaço sanguíneo, corado com panótico rápido (NEW PROV®), foi realizada a conferência do hematócrito com a régua e leitura das proteínas plasmáticas

totais (PPT) no refratômetro. A contagem de leucócitos foi conferida por meio da câmara de Neubauer na objetiva de 40X. O esfregaço sanguíneo foi avaliado macroscopicamente e microscopicamente para verificar a qualidade e coloração adequada, a observação foi realizada nas objetivas de 4X, 10X, 40X, e a contagem diferencial de leucócitos na objetiva de 100 X com imersão. A estimativa de plaquetas foi feita no esfregaço sanguíneo.

A amostra sem anticoagulante foi centrifugada a 3.000 rotações por minuto (RPM) por cinco minutos para obtenção do soro. As análises bioquímicas foram realizadas através do analisador bioquímico semiautomático (Celer®), com kits bioquímicos (Labtest®).

Após a realização do hemograma o tubo com EDTA foi submetido a centrifugação a 1.600 RPM por cinco minutos e realizada a aspiração da capa leucoplaquetária com micropipetador de 10 microlitros e extensão sanguínea em três lâminas, que foram coradas com panótico rápido (NEW PROV®). A observação das lâminas foi em microscopia óptica avaliando-se nas objetivas de 4X, 10X, 40X e 100X (com imersão).

Resultados e discussão

As técnicas moleculares (PCR e sequenciamento genético), são mais eficazes no diagnóstico de hepatozoonose, devido a alta sensibilidade e especificidade que possuem, e estão sendo cada vez mais utilizadas e relatadas na atualidade (OLIVEIRA et al., 2018; HARRIS et al., 2019; SCHÄFER et al., 2021). Embora a técnica de visualização de gamontes em microscopia óptica não seja muito sensível, por depender da parasitemia, foi possível observar na pesquisa de hematozoários em capa leucoplaquetária (Tabela 1) do presente relato os gamontes de *Hepatozoon*, no interior de neutrófilos (Figura 1). Os gamontes não foram observados no esfregaço sanguíneo do sangue periférico da jaguatirica, apenas na pesquisa em capa flogística, que foi possível devido a concentração de leucócitos proporcionada por esta técnica, que de acordo com Karagenc et al. (2005), aumenta a sensibilidade de visualização em sangue periférico por microscopia direta.

Tabela 1. Pesquisa de hematozoários da jaguatirica (*Leopardus pardalis*)

Tipo de exame	Resultado	Referência
Pesquisa de hematozoários	Positivo para <i>Hepatozoon</i> spp	Negativo

Fonte: Laboratório de patologia clínica do Hospital Veterinário da UFMT Campus Sinop

De acordo com os médicos veterinários responsáveis pelo atendimento da jaguatirica, não foram observados ectoparasitas, coincidindo com casos em felinos selvagens positivos para hepatozoonose descritos por Metzger et al. (2008) e Braz e Umeda (2015), que também não encontraram. Já nos casos descritos por Furtado et al. (2017), foram encontrados carrapatos do gênero *Amblyoma* nas onças (*Panthera onca*). Porém não pode ser descartada a presença de ectoparasitas na jaguatirica, já que pode existir falha na observação, devido a camuflagem nos pelos. Alguns autores acreditam que o vetor seja o carrapato (METZGER et al. 2008; CUBAS et al. 2014; MORELLI et al., 2020), ou presas (METZGER et al. 2008).

Ao exame radiográfico foi descartado a presença de projétil na jaguatirica, e na requisição de exames laboratoriais não foram descritos sinais clínicos que possam ter correlação com o protozoário encontrado, coincidindo outros casos que também não tiveram sinais clínicos associados nos animais positivos, em gatos do mato (KUBO; MIYOSHI; YASUDA, 2006; METZGER et al. 2008), jaguatiricas (METZGER et al. 2008; BRAZ E UMEDA, 2015), lincas (ALLEN et al. 2011), onças (FURTADO et al. 2017), e leopardos (KHOSHNEGAH et al. 2012; AS, 2020). A doença é mais comumente diagnosticada em caninos domésticos e geralmente ocorre de forma subclínica também, ou branda, os sinais clínicos nesta espécie

podem ser febre, perda de peso, hiperestesia em regiões paravertebrais, anorexia, entre outros (NELSON; COUTO, 2015).

No eritrograma (Tabela 2) encontrou-se anemia microcítica normocrômica, coincidindo com o relato de hepatozoonose em jaguatirica de Braz e Umeda (2015) no Mato Grosso do Sul, a alteração encontrada no presente relato foi discreta e possivelmente está associada a deficiência ou falha na absorção de ferro, visto que se trata de um animal de vida livre, e não se tem dados de alterações hematológicas associadas a enfermidade, sendo a hipoalbuminemia outro dado que corrobora esta possibilidade. A anemia microcítica normocrômica do caso de Braz e Umeda (2015) também não foi correlacionada a hepatozoonose. O leucograma (Tabela 2) da jaguatirica (Leucocitose por neutrofilia e linfocitose), apresentou um padrão típico de leucograma em resposta à excitação, que acontece muito em felinos domésticos, devido a manipulação, que segundo a Thrall et al. (2015) acontece quando há liberação de epinefrina, provocando alterações cardiovasculares que aumentam o fluxo sanguíneo muscular, levando a migração de leucócitos para o interior dos vasos sanguíneos. A leucocitose discreta apresentada, ausência de desvio à esquerda e hipersegmentações em neutrófilos, e presença da linfocitose reforçam esta possibilidade. Já a eosinofilia é comumente encontrada em casos de

parasitismo e endoparasitoses (THRALL et al., 2015) e pode ter correlação com o protozoário encontrado na jaguatirica. As alterações no leucograma da paciente diferiram das alterações encontradas em outra jaguatirica (BRAZ; UMEDA, 2015), com hepatozoonose, e histórico de fratura em fêmur, que

foram leucocitose por neutrofilia e monocitose, e linfopenia, neste caso as alterações são achados comuns em casos de resposta à corticosteroides (THRALL et al., 2015), e podem ter ocorrido devido a dor associada ao trauma, e também não parecem estar associadas ao *Hepatozoon*.

Tabela 2. Hemograma da jaguatirica (*Leopardus pardalis*)

Tipo de exames	Valores encontrados	**Valores de referência
Hemácias ($10^6/\mu\text{L}$)	5,77	4,24-6,16
Hemoglobinas (g/dL)	10,1	9,47-12,69
Hematócrito (%)	31,6	32-41
VCM (fl)	54,8	60-87
CHCM (%)	31,9	27-32
Leucócitos totais (μL)	17.500	8.600-16.200
Neutrófilos segmentados relativos (%)	74	77-91
Absolutos (μL)	12.950	4407-9771
Neutrófilos bastonetes relativos (%)	0	0- 2
Absolutos (μL)	0	0-298
Linfócitos relativos (%)	15	3-13
Absolutos (μL)	2.625	396-1513 μL
Eosinófilos relativos (%)	9	2-9
Absolutos (μL)	1.575	0-1513
Monócitos relativos (%)	2	0-2%
Absolutos (μL)	350	0-318/ μL
Basófilos relativos(%)	0	0-1
Absolutos (μL)	0	0-50
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	502.000	188-398
Proteínas Plasmáticas Totais (g/dL)	7,6	7,17-8,75

Fonte: Laboratório de patologia clínica do Hospital Veterinário da UFMT Campus Sinop

**Valores de referência: Cubas et al (2014) e Santos (1999).

A trombocitose (Tabela 2) encontrada na jaguatirica pode estar associada a dois mecanismos um deles é fisiológico pela liberação de epinefrina, e aparente ação na liberação das plaquetas em baço e pulmões como ocorre em gatos domésticos (STOCKHAM; SCOTT, 2011), o outro mecanismo seria ligado ao processo inflamatório já que a jaguatirica apresentava lesão no membro e escoriações, devido as interleucinas inflamatórias, que estimulam a produção de trombopoetina, e aumento da trombopoiese, ou a possível associação com anemia ferropriva, neste caso não está bem definido o mecanismo, mas pode estar associado ao aumento de citocinas inflamatórias e aumento de eritopoetina (THRALL et al. 2015).

O aumento da ureia (Tabela 3) sem aumento de creatinina foi observado também no relato de Braz e Umeda (2015) tanto em jaguatirica como em gato

iriomote (SAKUMA et al., 2011) sugerindo que esta pode ser uma alteração bioquímica comum em felinos domésticos e selvagens infectados, embora não se possa afirmar devido a falta de um número maior de ocorrência em felinos e a influência da dieta na concentração deste parâmetro, pela maior ingestão de proteínas nos carnívoros, necessitando de acompanhamento da paciente e novos exames para melhor avaliação.

Os exames bioquímicos (alanina aminotransferase e gama glutamil transferase) estavam abaixo do valor de referência (Tabela 3), mas de acordo com Santos (1999), esta redução não tem relevância clínica para os felinos selvagens. Para descartar alguma probabilidade das enzimas estarem baixas somente no dia da avaliação, já que a meia-vida das enzimas pode variar, poderiam ser realizadas novas mensurações em outro dia.

Tabela 3. Bioquímicos da jaguatirica (*Leopadus pardalis*)

Tipo de exames	Valores encontrados	**Valores de referência
Alanina aminotransferase (U/L)	28	49-84
Creatinina (mg/dL)	1,5	1,3-2,3
Ureia (mg/dL)	95	23-41
Fosfatase alcalina (U/L)	54	*
Gama glutamil transferase (g/dL)	3,0	6,45-11,67
Proteínas totais (g/dL)	7,2	6,38-8,08
Albumina (g/dL)	1,92	2,9-3,7

Fonte: Laboratório de patologia clínica do Hospital Veterinário da UFMT Campus Sinop.

**Valores de referências: Cubas et al (2014) e Santos (1999).

*Valores de referências não encontrados

Considerações finais

A capa flogística tornou o diagnóstico por visualização de *Hepatozoon* em microscopia óptica pelo sangue periférico mais sensível.

As alterações hematológicas e bioquímicas encontradas na jaguatirica são inespecíficas, e podem não estar correlacionadas com a hepatozoonose, necessitando mais estudos para se estabelecer a patogenia, vetor e os sinais clínicos e hematológicos envolvidos, visto que pouco se sabe sobre a infecção, e o quanto ela pode ser prejudicial a saúde dos animais acometidos, principalmente quando associada a outras enfermidades.

Referências

Aguiar, D.M.; Ribeiro, M.G.; Silva W.B.; Dias Jr, J.G.; Megid J.; Paes A.C. Hepatozoonose canina: achados clínico-epidemiológicos em três casos. In Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, [Minas Gerais], v.56, n.3, p.411-413, jun. 2004. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352004000300021>

Allen, K.E.; Yabsley, M.J.; Johnson, E.M., Reichard, M.V.; Panciera, R.J.; Ewing, S.A.; Little, S.E. .Novel Hepatozoon in Vertebrates From the Southern United States, Journal of Parasitology, [Washington], v.97, n4, 648-653, ago. 2011. <https://doi.org/10.1645/GE-2672.1>

As M. V.; Holanda, E. C.; Smit, N.J. Molecular characterisation and morphological description of two new species of *Hepatozoon* Miller, 1908 (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) infecting leukocytes of African leopards *Panthera pardus pardus* (L.). Parasites e Vectors, [S. I.], v. 13, n 222, p.1-16 mai. 2020. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3933-6>

Braz, P.H.; Umeda, L.M.L. PRIMEIRO RELATO DE Hepatozoon spp. EM JAGUATIRICA (*Leopardus pardalis*) EM MATO GROSSO DO SUL. Acta veterinária Brasileira, [Rio Grande do Norte], v. 9 n. 2 p.176-179, jul. 2015.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária. 2.ed. São Paulo: Editora GEN/Roca, 2014.

Furtado el al. Hepatozoon SPP. Infect Free-Ranging Jaguars (*Panthera onca*) in Brazil. Journal of Parasitology, [Washington], v 103, n 3, p. 243–250, jun.2017. <https://doi.org/10.1645/16-99>

Harris, D. J; Halajian, A; Santos, J.; Rampedi, K. M.; Xavier, R. Genetic diversity of Hepatozoon (Apicomplexa) from domestic cats in South Africa, with a global reassessment of Hepatozoon felis diversity. In Journal of the South African Veterinary Association, [Africa], v 90, n.1747, p.1-6, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.4102/jsava.v90i0.1747>

Karagenc, T.I.; Pasa S.; Kirli G.; Hosgor M., Bilgic H. B.; Ozon Y. H.; Atasoy A.; Eren H. A. Parasitological, molecular and serological survey of Hepatozoon canis infection in dogs around the Aegean coast of Turkey. In Vet Parasitol, [Kansas EUA],v. 135 n. 2, p113-9, jan. 2006. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.08.007.

Khoshnegah, J.; Mohri, M.; Mirshahi, A.; Mousavi, S. J. Detection of Hepatozoon sp. in a Persian Leopard (*Panthera pardus ciscaucasica*). In Journal of Wildlife Diseases, [S. I.], v. 48, n. 3, p. 776–780. jul. 2012. doi:10.7589/0090-3558-48.3.776

KUBO, M.; MIYOSHI, N.; YASUDA, N. Hepatozoonosis in Two Species of Japanese Wild Cat. In J Vet Med Sci, [Tóquio], [S. I.], v. 68, n. 8, p. 833–837 ago. 2006 .doi:10.1292/jvms.68.833

Metzger, B., Paduan, K. dos S., Rubini, A. S., Oliveira, T. G. de, Pereira, C., & O'Dwyer, L. H. (2008). The first report of Hepatozoon sp. (Apicomplexa: Hepatozoidae) in neotropical felids from Brazil. Veterinary Parasitology, [Amsterdã], v. 152 n.1-2, p. 28–33, mar. 2008. doi:10.1016/j.vetpar.2007.12.006

Morelli el al. First record of Hepatozoon spp. in domestic cats in Greece. Ticks and Tick-Borne

Diseases, [S. I.], v.12, n.1, pag 1-19, jan.2021 . doi:10.1016/j.ttbdis.2020.101580

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

Oliveira, et al. Molecular detection of *Anaplasma bovis*, *Ehrlichia canis* and *Hepatozoon felis* in cats from Luanda, Angola. Parasites & vectors, [S. I.], v.11, n. 167, pag 1-6, mar. 2018. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2767-y>

PATTON, WS As hemogregarinas de mamíferos e répteis. Parasitologia. [S. I.], v. 1, n. 4, pág. 318-321, dez, 1908. <https://doi.org/10.1017/S0031182000003620>

Perez, R. R.; Rubini, A. S.; O'Dwyer, L. H. The first report of *Hepatozoon* spp .Apicomplexa, Hepatozoidae in domestic cats from São Paulo state, Brazil. Parasitology Research, [Berlim], v. 94, n 2, p 83-5, set. 2004. DOI: 10.1007/s00436-004-1167-8

SAKUMA, M et al. A case of Iriomote cat (*Prionailurus bengalensis iriomotensis*) with *Hepatozoon felis* parasitemia. Journal of Veterinary Medical Science, [S. I.], v. 73, n. 10, p. 1381, 2011. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0210>

Santos, L. C. Laboratório Ambiental. Ed 574028 Paraná: Unioeste, 1999.

Schäfer I, Kohn B, Nijhof AM, Müller E. Molecular detection of *Hepatozoon* species infections in domestic cats living in Germany. In Journal of Feline Medicine and Surgery, [S. I.], Nov. 2021. doi:10.1177/1098612X211055680

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

Taylor, M.; Coop, B. & Wall, RL (2017). Parasitologia veterinária. 4 ed. Wiley-Blackwell, Reino Unido.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.