

JULIANA GOMES PEREIRA

**DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DE LESÕES
CUTÂNEAS E SUBCUTÂNEAS NO CÃO**

Orientador: Professora Doutora Margarida Alves

Coorientador: Dra. Joana Fonseca

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2020

JULIANA GOMES PEREIRA

DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DE LESÕES CUTÂNEAS E SUBCUTÂNEAS NO CÃO

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias no dia 12 de Fevereiro de 2020, com o Despacho Reitoral nº 08/2020, com a seguinte composição de júri:

Presidente: Prof.^a Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Prof.^a Doutora Maria Nazaré Cunha

Orientador: Prof.^a Doutora Margarida Alves

Coorientador: Prof.^a Joana Fonseca

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2020

Agradecimentos

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, na pessoa da sua Diretora, Professora Doutora Laurentina Pedroso, pela possibilidade de realização desta Dissertação de Mestrado.

À Prof^a Doutora Margarida Alves por ter aceite orientar a presente dissertação, pela disponibilidade e orientação demonstradas.

À Prof^a Dra. Joana Fonseca por ter aceite ser coorientadora, pela ajuda aquando da decisão do tema desta dissertação de mestrado, pelo apoio constante durante todo o processo de escrita e pelos conselhos e ensinamentos transmitidos.

À Prof^a Dra. Ana Oliveira por todo o apoio, incentivo e pela disponibilidade na transmissão de conhecimentos preciosos na área da Dermatologia.

À Mestre Ana Lúcia Rodrigues pela forma acolhedora e disponível como me recebeu no LACH. A todos os profissionais do Hospital Escolar pelo profissionalismo e dedicação demonstrados.

A todos os meus amigos e família, principalmente aos meus pais e irmão, pelo apoio incondicional, paciência e compreensão durante todo o curso.

A todos os excelentes profissionais com quem trabalhei no Hospital Veterinário das Laranjeiras, pela paciência, companheirismo e pela partilha de experiências e conhecimento imprescindíveis durante todo este processo.

Por fim, ao Bruno Santos por estar sempre presente nos bons e maus momentos e nunca deixar de acreditar em mim.

Resumo

A análise citológica consiste num exame complementar de diagnóstico que pode ser realizado em qualquer centro veterinário e ser fonte de informação diagnóstica relevante para o Médico Veterinário. É uma técnica de baixo custo e de fácil execução. A avaliação microscópica das amostras citológicas pode ser feita diretamente pelo clínico, sendo requerida alguma dedicação e prática, ou por patologistas experientes em laboratórios externos.

Pretendeu-se, com a presente dissertação, avaliar a análise citológica como ferramenta útil e acessível no diagnóstico das principais lesões cutâneas e subcutâneas no cão, sendo uma técnica que não requer equipamento sofisticado e que permite obter, de forma rápida, resultados satisfatórios.

Para a presente dissertação realizou-se um estudo prospetivo com 119 análises citológicas de lesões cutâneas e subcutâneas provenientes de 63 cães. As amostras foram obtidas através das técnicas, punção por agulha fina, fita-cola, aposição e raspagem, no período compreendido entre 17 de Setembro de 2018 e 31 de Janeiro de 2019, no LACH da FMV-ULHT de Lisboa. As amostras citológicas foram processadas e, posteriormente, observadas ao microscópio ótico. Os resultados foram analisados, tendo sido obtidos 82% de resultados conclusivos. As lesões cutâneas e/ou subcutâneas mais frequentemente diagnosticadas foram o lipoma (17%), o mastocitomas (15%), processo inflamatório supurativo séptico (6%), quisto epidermal (6%) e demodecose (5%). A técnica preferencial para a colheita de amostras de lesões cutâneas e subcutâneas foi a punção por agulha fina, tendo sido usada em 75% dos casos. Os resultados demonstraram que a análise citológica possibilita o diagnóstico das lesões cutâneas e subcutâneas mais comuns no cão.

Palavras-chave: Análise citológica, punção por agulha fina, lesões cutâneas e subcutâneas, cães.

Abstract

Cytological analysis is a complementary diagnostic test that can be performed at any veterinary centre and be a source of relevant diagnostic information to any clinician. It is a low-cost technique and easy to perform. The microscopic evaluation of cytological samples can be done by the clinician, requiring some dedication and practice, or sent to external laboratories where they are evaluated by experienced pathologists.

The aim of the present dissertation was to evaluate cytological analysis as a useful and accessible tool in the diagnosis of the main cutaneous and subcutaneous lesions in dogs, considering it is a technique that not only does not require sophisticated equipment, but also allows quick and satisfactory results.

A prospective study including 119 cytological analyses of cutaneous and subcutaneous lesions from 63 dogs was performed. The samples were obtained by fine needle aspiration, adhesive tape, apposition and scraping. These samples were collected from the 17th of September 2018 until the 31st January 2019 in the LACH of the FMV-ULHT in Lisbon. The cytological samples were processed and subsequently observed under the optical microscope. The results were analysed and 82% were conclusive. The most commonly diagnosed cutaneous and/or subcutaneous lesions were lipoma (17%), mast cell tumor (15%), septic suppurative inflammatory process (6%), epidermal cyst (6%) and demodicosis (5%). The preferential technique for sampling cutaneous and subcutaneous lesions was fine needle aspiration, which was performed in 75% of cases. The results showed that cytological analysis allows the diagnosis of the most common cutaneous and subcutaneous lesions in dogs.

Keywords: Cytological analysis, fine needle aspiration, cutaneous and subcutaneous lesions, dogs.

Índice

Índice de Figuras.....	7
Índice de Tabelas	9
Lista de Abreviaturas.....	10
I. Descrição da Casuística do Estágio Curricular	11
II. Diagnóstico Citológico de Lesões Cutâneas e Subcutâneas no Cão	15
1 Introdução.....	15
1.1 Análise Citológica – Importância na Prática Clínica	15
1.2 Métodos de Colheita de Amostras	16
1.2.1 Punção por Agulha-Fina	18
1.2.2 Aposição.....	18
1.2.3 Raspagem	19
1.2.4 Zaragatoa	19
1.2.5 Fita-cola.....	19
1.3 Preparação e Coloração da Amostra	20
1.4 Interpretação Citológica.....	20
1.4.1 Submissão e avaliação de amostras para citologia	21
1.4.2 Pele.....	22
1.4.3 Células de Lesões Inflamatórias.....	23
1.4.4 Células de Lesões Neoplásicas.....	24
1.4.4.1 Células Redondas	24
1.4.4.2 Células Epiteliais	24
1.4.4.3 Células Mesenquimatosas	25
1.4.4.4 Critérios de Malignidade	25

1.4.5	Agentes Infeciosos.....	28
1.5	Lesões Cutâneas e Subcutâneas - Interpretação Citológica.....	29
1.5.1	Lesões Não Neoplásicas	30
1.5.1.1	Quistos cutâneos.....	30
1.5.1.2	Resposta a lesão tecidual.....	30
1.5.2	Lesões Inflamatórias	31
1.5.3	Lesões Neoplásicas	32
1.6	Lesões cutâneas e subcutâneas mais comuns no cão	33
1.6.1	Processos Inflamatórios Cutâneos	33
1.6.1.1	Granuloma por lambedura acral	33
1.6.1.2	Paniculite	33
1.6.1.3	Lesões por Corpo Estranho	34
1.6.1.4	Infeções Bacterianas.....	34
1.6.1.5	Infeções Micóticas/Fúngicas.....	36
1.6.1.6	Outras infecções	37
1.6.2	Lesões Neoplásicas	38
1.6.2.1	Mastocitoma	38
1.6.2.2	Histiocitoma.....	40
1.6.2.3	Papilomas.....	41
1.6.2.4	Tricoblastoma.....	41
1.6.2.5	Carcinoma das Células Escamosas	42
1.6.2.6	Tumor das Glândulas Perianais ou Tumor das Células Hepatóides	43
1.6.2.7	Adenoma Sebáceo/Epitelioma Sebáceo	44

1.6.2.8	Lipoma.....	45
1.6.2.9	Melanocitoma/ Melanoma.....	46
2	Material e Métodos	47
2.1	Critérios de inclusão	47
2.2	Critérios de exclusão	47
2.3	Recolha de amostras e dados clínicos.....	47
2.4	Análise estatística	48
3	Resultados	49
4	Discussão	57
5	Conclusão.....	62
6	Referências Bibliográficas.....	63
ANEXO I – Requisições de Análises do LACH		I
Anexo II – Protocolo de Coloração usado no LACH.		III

Índice de Figuras

Figura 1: Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia da FMV-ULHT.....	11
Figura 2: Análises efetuadas entre 17 de Setembro de 2018 e 31 de Janeiro de 2019 no LACH.	13
Figura 3: Amostras obtidas por diferentes técnicas de colheita.....	13
Figura 4: Espécie dos animais que se apresentaram a consulta de Dermatologia.....	14
Figura 5: Esquema de orientação no diagnóstico citológico.	29
Figura 6: Processo inflamatório supurativo séptico.....	35
Figura 7: Presença de <i>Demodex spp.</i> (x100).....	37
Figura 8: Granuloma com presença de <i>Leishmania spp.</i> (x400).....	38
Figura 9: A) Presença de mastocitoma no membro pélvico esquerdo de um cão. B) Mastocitoma (x1000).....	39
Figura 10: A) Presença de um histiocitoma num cão. B) Neoplasia de células redondas, compatível com um histiocitoma (x400).....	41
Figura 11: Carcinoma de células escamosas (x100).....	43
Figura 12: Tumor das glândulas perianais (x100).....	44
Figura 13: Adenoma sebáceo (x400).....	44
Figura 14: Lipoma ou aspiração de gordura tecidual (x400).....	45
Figura 15: Coloração MGG Quick Stain®.....	48
Figura 16: Distribuição das amostras em estudo segundo o Sexo (A) e Estado reprodutivo (B) dos animais das análises citológicas em estudo.	50
Figura 17: Distribuição das amostras em estudo em função da idade dos animais das análises citológicas em estudo.	50
Figura 18: Distribuição das amostras em estudo, segundo o tipo de resultados obtidos: resultados conclusivos e inconclusivos.	51
Figura 19: Distribuição dos resultados conclusivos em lesões neoplásicas e não neoplásicas.....	52
Figura 20: Distribuição das lesões não neoplásicas relativamente ao seu estado inflamatório	52
Figura 21: Processo inflamatório supurativo séptico e contaminação sanguínea com microfilárias (x400).....	53
Figura 22: Lipoma (x1000).....	55
Figura 23: Mastocitoma, aparentemente, de baixo grau (x400).....	55
Figura 24: Quisto epidermal (x100).....	56

Figura 25: Presença de *Demodex spp.*. A) Técnica de colheita de amostras: Fita-cola.
(x400). B) Técnica de colheita de amostras: Tricograma (x1000)..56

Índice de Tabelas

Tabela 1: Análises efetuadas entre 17 de Setembro de 2018 e 31 de Janeiro de 2019 no LACH.	12
Tabela 2: Diagnósticos clínicos observados na consulta de dermatologia.....	14
Tabela 3: Técnicas de colheita de amostras: indicações, vantagens e desvantagens	17
Tabela 4: Classificação histológica do sistema de Patnaik.....	40
Tabela 5: Raças de cães submetidos a análise citológica.	49
Tabela 6: Técnicas de colheita de amostras e a sua relação com os resultados obtidos.....	51
Tabela 7: Resultados das análises citológicas.	54

Lista de Abreviaturas

µm – micrómetro

aPTT – Tempo Parcial de Tromboplastina Ativada, do inglês “Activated Partial Thromboplastin Time”

cPLi – Lipase pancreática canina, do inglês “canine Pancreatic Lipase immunoreactivity”

et al. – E outros, da locução latina “et alli”

FE – Fêmea esterilizada

FelV – Vírus da Leucemia Felina, do inglês “Feline Leukemia Virus”

FI - Fêmea Inteira

FIV – Vírus da Imunodeficiência Felina, do inglês “Feline Immunodeficiency Virus”

FMV – Faculdade de Medicina Veterinária

fPLi – Lipase pancreática felina, do inglês “feline Pancreatic Lipase immunoreactivity”

G – Gauss

LACH – Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia

MC – Macho Castrado

MI – Macho Inteiro

mL – Mililitros

PAAF – Punção Aspirativa de Agulha Fina

PAF – Punção de Agulha Fina

PNAAF – Punção Não Aspirativa de Agulha Fina

PT – Tempo de Protrombina, do inglês “Prothrombin Time”

Rácio N:C – Rácio núcleo-citoplasma

Rácio UPC – Rácio Proteína/Creatinina Urinário, do inglês “Urine Protein Creatinine Ratio”

SRD – Sem Raça Definida

TSA – Teste de Sensibilidade aos Antibióticos.

ULHT – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

I. Descrição da Casuística do Estágio Curricular

A presente dissertação integra-se no âmbito de estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária (FMV) da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (ULHT).

O estágio curricular foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia (LACH) da FMV-ULHT, que se localiza em Lisboa. Este teve a duração de 4,5 meses, tendo decorrido no período compreendido entre 17 de Setembro de 2018 e 31 de Janeiro de 2019. No laboratório um dos objetivos propostos aos estagiários é a familiarização com todo o material, procedimentos e exames laboratoriais complementares que se encontram disponíveis. As atividades desenvolvidas no LACH (figura 1) passaram pela realização, observação e elaboração de relatórios de exames laboratoriais na área da Patologia Clínica sendo estes: hemograma completo, microhematócrito, bioquímicas sanguíneas, ionogramas, realização e observação microscópica de esfregaços sanguíneos e citologias diagnósticas, urianálises, testes endócrinos, testes serológicos, pesquisa de parasitas através do método de flutuação e microbiologia. Todas as análises rececionadas no LACH estão sujeitas a um registo digital em que todas as amostras e respetivas requisições são identificadas com um código único utilizado em todas as análises laboratoriais. Depois de realizadas as diferentes análises e respetivos relatórios, estes são anexados nas fichas clínicas dos animais no Software Boomed®.

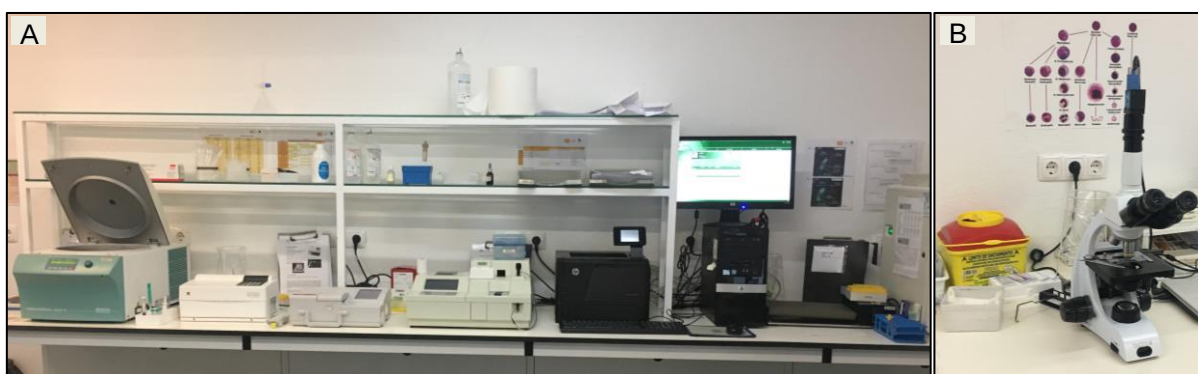


Figura 1: Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia da FMV-ULHT. A) Equipamentos de análises bioquímica e hematologia. B) Zona de observação de análises citológicas. Original da autora.

Durante o estágio curricular foram processadas um total de 3646 análises, incluindo hematologia, bioquímicas sanguíneas, citologia, urianálise, microbiologia, análise fecal, endocrinologia e serologia, que se encontram resumidas na tabela 1

Tabela 1: Análises efetuadas entre 17 de Setembro de 2018 e 31 de Janeiro de 2019 no LACH.

Tipo de Análise	Nº de Análises Realizadas
Bioquímicas Isoladas	1508
Hemograma	612
Painel V	344
Citologia	275
Esfregaço sanguíneo	218
Microhematócrito	200
Urina tipo II	153
Cultura e TSA	127
Testes endócrinos	42
Rácio UPC	34
FIV/FelV	28
Pesquisa de parasitas gastrointestinais	23
Contagem reticulócitos	19
Sedimento urinário	13
fPLi	11
PT/aPTT	9
cPLi	9
Cultura fúngica	7
Tricograma	5
Hemoparasitas	5
Pesquisa de parasitas pulmonares	4
Total	3646

FIV – Vírus da Imunodeficiência Felina; FelV – Vírus da Leucemia Felina; Rácio UPC – Rácio Proteína/Creatinina Urinário; fPLi – Lipase pancreática felina; cPLi – Lipase pancreática canina; TSA – Teste de Sensibilidade aos Antibióticos; PT – Tempo de Protrombina; aPTT - Tempo Parcial de Tromboplastina Ativada.

Como se pode verificar na figura 2, as análises realizadas em maior quantidade no LACH no referido período foram: bioquímicas (1852), hematologia (1058), citologia (280), urianálise (200) e microbiologia (134).

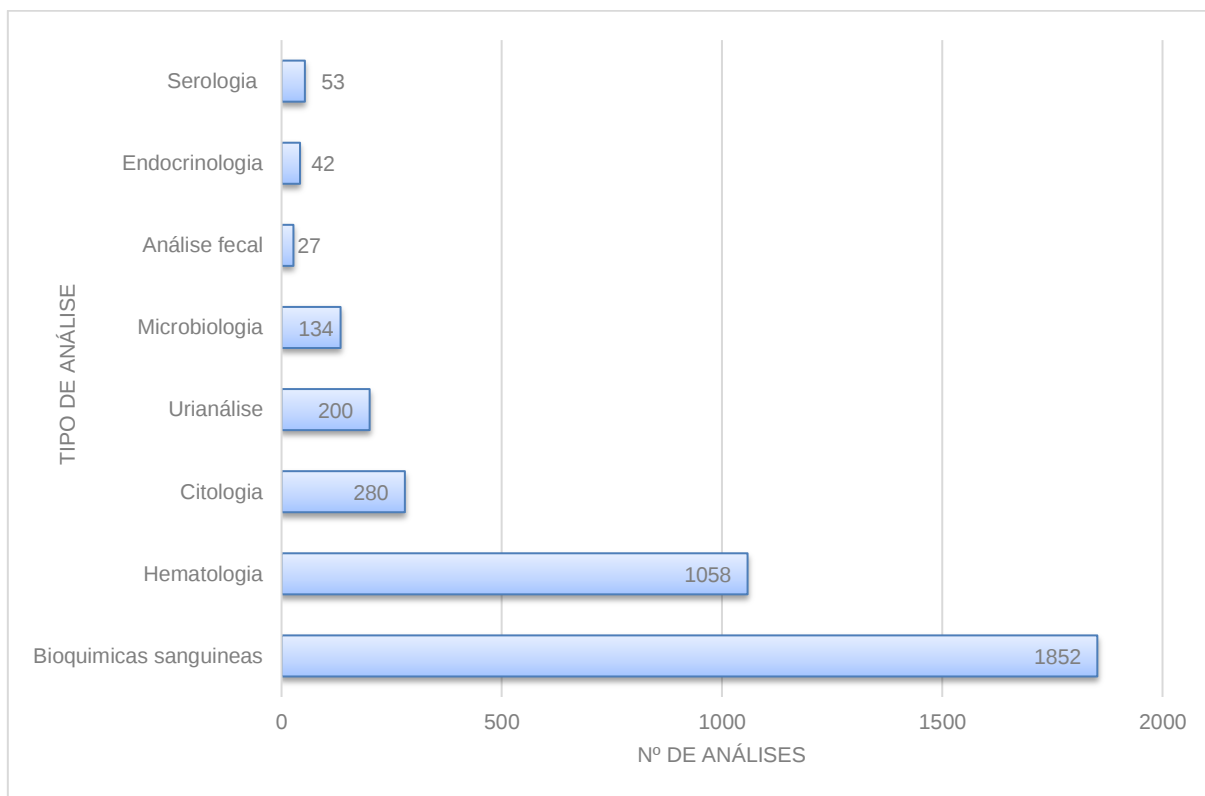


Figura 2: Análises efetuadas entre 17 de Setembro de 2018 e 31 de Janeiro de 2019 no LACH.

O LACH serve de apoio ao Hospital Escolar Veterinário da FMV-ULHT. Deste modo, para além de ter sido possível fazer parte do funcionamento normal do laboratório houve também a oportunidade de acompanhar algumas das consultas da especialidade de Dermatologia, onde foi possível realizar algumas técnicas de colheita de amostras para análise citológica, tais como, raspagem de pele, fita-cola e punção aspirativa de agulha fina de lesões cutâneas e observação de tricogr(figura 3). Algumas das amostras colhidas no âmbito de consulta de Dermatologia foram preparadas e observadas no LACH pela autora.

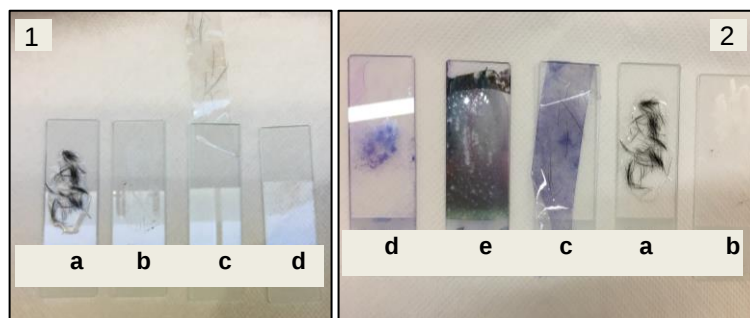


Figura 3: Amostras obtidas por diferentes técnicas de colheita. 1) Amostras antes da coloração. 2) Amostras após coloração. (a - Tricograma, b - Zaragatoa, c - Fita-cola, d - Aposição, e – PAF). Original da autora.

Apresentaram-se a consultas de Dermatologia, no referido período, 28 animais, dos quais, 4 (14%) foram gatos e 24 (86%) foram cães (figura 4). Dos 28 animais, houve vários que se apresentaram em consulta em diferentes datas, resultando, assim, num total de 57 consultas. Alguns dos animais apresentavam mais do que um diagnóstico, dos 13 diagnósticos observados.

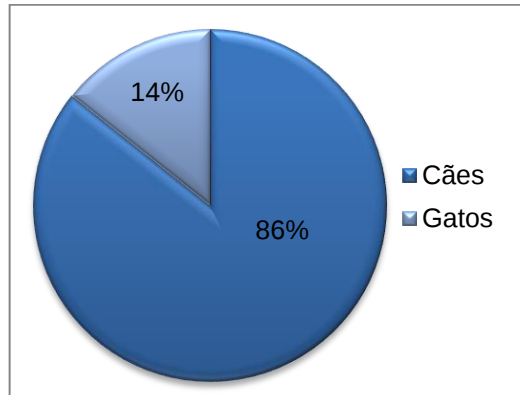


Figura 4: Espécie dos animais que se apresentaram a consulta de Dermatologia.

As consultas mais frequentes foram as de animais diagnosticados com dermatite atópica. Para além disso foram também observados casos de piodermite, foliculite, pododermatite conformacional, otite, otohematoma, dermatite por *Malassezia spp.*, leishmaniose, fístula perianal, adenoma perianal, furunculose, demodecose e dermatofitose (tabela 2).

Tabela 2: Diagnósticos clínicos observados na consulta de dermatologia.

Diagnósticos	Nº Diagnósticos
Dermatite Atópica	15
Otite	6
Piodermite	4
Foliculite	4
Pododermatite Conformacional	3
Dermatite por <i>Malassezia spp.</i>	2
Leishmaniose	1
Otohematoma	1
Fístula Perianal	1
Adenoma Perianal	1
Dermatofitose	1
Demodecose	1
Furunculose	1

II. Diagnóstico Citológico de Lesões Cutâneas e Subcutâneas no Cão

1 Introdução

A análise citológica é um meio de diagnóstico com grande potencial devido ao baixo custo e à vasta informação que pode fornecer. Embora seja necessária experiência, trata-se de um exame que pode ser facilmente incluído nos serviços prestados por qualquer centro veterinário. A citologia não deve ser vista como um substituto, mas sim como um complemento da histopatologia. A análise citológica de lesões cutâneas e subcutâneas é das mais utilizadas para efeitos de diagnóstico, uma vez que as deformações sofridas por estes tecidos, mesmo as de expressão diminuta, são rapidamente identificadas a partir das primeiras fases de formação e a sua abordagem na colheita é, regra geral, simples. Este estudo prospetivo irá, assim, avaliar a importância do uso da análise citológica como ferramenta de diagnóstico acessível a praticamente todos os clínicos em Medicina Veterinária, e também a sua utilização nas lesões cutâneas e subcutâneas mais comuns no cão.

1.1 Análise Citológica – Importância na Prática Clínica

A citologia é uma técnica diagnóstica que consiste na observação e avaliação de células de amostras de tecidos ao microscópio ótico (Bayou, 2017). A colheita de amostras é realizada de forma não invasiva, que regra geral não requer anestesia ou analgesia, sendo obtidos resultados num curto período de tempo, permitindo estabelecer o próximo passo na abordagem diagnóstica (MacNeill, 2011; Bayou, 2017).

A citologia é uma ferramenta poderosa para avaliação de lesões de pele em animais de companhia. Em muitos casos, a citologia pode fornecer um diagnóstico definitivo para massas cutâneas. Em outros, a avaliação da amostra pode excluir alguns diagnósticos diferenciais e ajudar a escolher qual o melhor exame complementar de diagnóstico a realizar a seguir, para chegar ao diagnóstico (Garrett, 2016). O sucesso deste procedimento depende de vários fatores, tais como, seleção da técnica de colheita da amostra mais adequada e a sua correta execução, aquisição de uma amostra representativa, da sua preparação adequada e coloração. Um único erro nestes passos pode comprometer irreparavelmente os resultados (Cian, 2014).

As vantagens da citologia são variadas, destacando-se oferecer uma avaliação rápida do processo subjacente, permitir a elaboração de um plano de ação e não requer

equipamento sofisticado, apenas agulhas, seringas, lâminas de vidro, colorações e um microscópio. Para além disso, é uma técnica não invasiva, segura e de baixos custos. Esta causa pouco desconforto ao paciente, sendo as lesões cutâneas/subcutâneas facilmente visíveis e acessíveis (Shelly, 2003). Por outro lado, a avaliação citológica tem algumas limitações: i) pode ser difícil obter células, especialmente se a lesão for de natureza fibrosa; ii) a técnica usada para obter a amostra afetará o número, a distribuição e a aparência das células disponíveis para avaliação e iii) por vezes não permite uma avaliação diagnóstica. Nas preparações citológicas, são poucas as diferenças entre as células hiperplásicas, as células adenomatosas e as células malignas bem diferenciadas. Assim, o exame histopatológico é necessário, em alguns casos, para uma caracterização mais precisa (Shelly, 2003).

1.2 Métodos de Colheita de Amostras

Existem muitas lesões cutâneas que diferem umas das outras morfologicamente. Pápulas, pústulas, colaretes epidérmicos, descamação, erosões, úlceras, placas, nódulos e edema são clinicamente fáceis de reconhecer. Algumas destas lesões podem estar presentes simultaneamente no mesmo paciente, representando diferentes fases da mesma doença ou sinais clínicos de diferentes doenças coexistentes (Albanese, 2017).

Na citologia, como em todos os testes diagnósticos, a qualidade das amostras é a base para a sua interpretação correta. Mesmo havendo mais do que uma técnica de colheita de amostra que possa ser realizada a partir da mesma lesão, há sempre uma mais adequada, oferecendo mais garantias de obter uma amostra representativa (Albanese, 2017). A execução de uma amostragem citológica correta não pode desconsiderar três etapas básicas: a escolha do local da lesão, a escolha do método de colheita de amostra mais adequado para a lesão em particular e a preparação adequada da citologia (Albanese, 2017). Existem vários métodos de colheita de amostras que serão descritos a seguir, bem como as principais indicações para a escolha de cada um (tabela 3).

Tabela 3: Técnicas de colheita de amostras: indicações, vantagens e desvantagens (Adaptado de Meinkoth *et al.*, 2014; Cian, 2014; Marcos & Santos, 2011)

Técnicas de Colheita de Amostras			
	Indicações	Vantagens	Desvantagens
PAAF	- Massas cutâneas/subcutâneas - Linfonodos	- Boa celularidade	- Risco de hemodiluição e destruição celular mecânica
PNAAF	- Órgãos internos - Colheita de fluidos	- Morfologia celular preservada	- Fraca celularidade
Aposição	- Lesões cutâneas expostas ou exsudativas - Material de biópsia e necrópsia	- Identificação de organismos infecciosos: fungos, bactérias - Boa preservação da morfologia celular	- Fraca celularidade - Pode-se obter, apenas, células superficiais - Contaminação
Raspagem	- Pesquisa de ácaros - Lesões externas (firmes e que esfoliam pouco) ou lesões planas. Ou seja, lesões não passíveis de punção por agulha fina ou aposição - Material de biópsia e necrópsia	- Uso em amostras pouco esfoliativas - Maior celularidade que na técnica aposição	- Pode-se obter, apenas, células superficiais - Contaminação - Maior ruptura celular - Em lesões cutâneas secas, raspar de forma a obter algum sangue ou usar óleo de imersão para ajudar as células a aderir à lâmina
Zaragatoa	- Mucosas, por exemplo, Citologias vaginais. - Canal auditivo. - Tratos fistulosos. - Lesões ulceradas com bordos elevados	- Boa morfologia e boa celularidade. - Útil na classificação do tipo de resposta inflamatória e na identificação de organismos infecciosos	- Contaminação
Fita-cola	- Pesquisa de bactérias, ácaros e leveduras - Espaço interdigital e canal auditivo	- Boa preservação da morfologia celular	- Fraca celularidade - Contaminação

1.2.1 Punção por Agulha Fina

A punção por agulha fina (PAF) é o método preferencial para colheita de material de qualquer massa cutânea ou lesão proliferativa. A PAF permite a colheita de células do interior da lesão, evitando a contaminação da superfície. Células superficiais são, geralmente, pouco preservadas e podem apresentar artefactos relacionados com o envelhecimento celular e exposição a respostas secundárias de inflamação, especialmente em massas ulceradas. A PAF é a única técnica prática para colheita de material de massas subcutâneas ou órgãos internos (Meinkoth *et al.*, 2014). A punção por agulha fina pode ser realizada com uma seringa (3 a 20mL) e agulha (22 a 25 G), com ou sem aspiração. O local onde vai ser realizada a punção deverá ser preparado consoante o tecido a ser aspirado, ou seja, em casos onde a colheita não será feita dentro de uma cavidade corporal a tricotomia do pelo e desinfecção com álcool são suficientes (Meinkoth *et al.*, 2014). Na punção aspirativa de agulha fina (PAAF), quando a massa estiver estabilizada entre os dedos do operador, a agulha (conectada com a seringa) é inserida na massa com pressão negativa no êmbolo da seringa. A agulha é então redirecionada em várias direções dentro da massa, a fim de obter uma amostra representativa de toda a lesão. O centro de grandes massas contém, frequentemente, focos necróticos; portanto, redirecionar a agulha pelas áreas mais externas pode ser útil para obter uma amostra diagnóstica. Se for encontrado sangue durante a aspiração, a colheita deve ser interrompida, uma vez que a aspiração adicional somente resultará no aumento do grau de contaminação sanguínea da amostra. A pressão negativa é então libertada antes que a agulha seja removida da massa e da pele. Depois, a agulha é removida da seringa, o ar é puxado para dentro da seringa e a agulha é novamente conectada à seringa. O material dentro da agulha é, finalmente, expelido numa lâmina para preparação da citologia. Deve ser depositada uma pequena quantidade de amostra na lâmina (Cian, 2014). Na punção não aspirativa de agulha fina (PNAAF) é utilizada apenas uma agulha de pequeno calibre. A agulha é inserida na massa e redirecionada para o interior em vários ângulos diferentes. Depois de removida a agulha da lesão, esta é anexada a uma seringa com ar e o material presente no interior é expelido numa lâmina de vidro limpa para a preparação do esfregaço. (Cian, 2014).

1.2.2 Aposição

As citologias por aposição podem ser obtidas a partir de lesões cutâneas externas ulceradas ou exsudativas ou em amostras de tecidos removidos por cirurgia ou necrópsia. As amostras adquiridas desta forma exigem pouca contenção do animal em que a lâmina de vidro é colocada diretamente em contacto com a lesão (Meinkoth *et al.*, 2014).

1.2.3 Raspagem

As raspagens de pele são utilizadas como auxiliares no diagnóstico de ectoparasitas e são classificadas como raspagem superficial ou profunda (Mueller & Bettenay, 2017). A raspagem de pele superficial é usada para detetar ácaros que vivem na superfície da pele ou no estrato córneo, como *Cheyletiella spp.*, *Otodectes cynotis*, *Sarcoptes spp.* e *Notoedres cati*. A raspagem é realizada com uma lâmina de bisturi número 10, após aplicação de óleo de imersão na pele afetada, numa fina camada, de modo a facilitar o procedimento (Mueller & Bettenay, 2017). A raspagem de pele profunda é realizada para detetar ácaros *Demodex spp.*. No cão, *Demodex canis* encontra-se no folículo piloso. Suspeita-se que *Demodex injai* se encontre nas glândulas sebáceas (Mueller & Bettenay, 2017). Para esta técnica é usada uma lâmina de bisturi número 10 coberta com óleo de imersão, a pele é raspada na direção de crescimento do pelo até ser observado sangramento. O tricograma (pelo arrancado e colocado em óleo de imersão numa lâmina de vidro) é um teste em que também se pode observar *Demodex spp.*, particularmente útil em animais de companhia (Mueller & Bettenay, 2017).

1.2.4 Zaragatoa

As zaragatoas são, geralmente, usadas quando outros métodos de colheita não são práticos, como quando se obtêm amostras da vagina ou ouvido externo, ou de tratos fistulosos. Se a lesão não for muito húmida, sugere-se o humedecimento da zaragatoa com solução salina estéril, de forma a minimizar a destruição das células que pode ocorrer durante a colheita e a preparação da amostra. Uma vez colhida a amostra, a zaragatoa deve ser gentilmente rodada na superfície de uma lâmina de vidro limpa. É importante não arrastar o cotonete pela lâmina muitas vezes pois resultará na rutura de todas as células (Meinkoth et al., 2014).

1.2.5 Fita-cola

A fita-cola é um método para avaliação de lesões de pele, particularmente para detetar dermatite por *Malassezia spp.* e ácaros (Sharkey et al., 2007). Em dermatologia usa-se muito a impressão com fita-cola, que permite fazer colheitas a partir de zonas pouco acessíveis como espaços interdigitais e canal auditivo (Marcos & Santos, 2011). Um pedaço de fita-cola clara é colocado sobre a lesão de pele de forma a obter uma boa amostra; esta fita é removida e fixa numa lâmina de vidro com a face aderente para cima, procedendo posteriormente à coloração. Uma vez corada, coloca-se a fita-cola na lâmina com a superfície aderente para baixo (Sharkey et al., 2007; Marcos & Santos, 2011).

1.3 Preparação e Coloração da Amostra

A preparação da citologia é crucial no processo de obtenção de uma boa amostra citológica. O objetivo é conseguir uma monocamada de células bem preservadas que possa ser observada e identificada pelo patologista. Isto pode ser conseguido através de vários métodos, nomeadamente, esmagamento/squash, técnica de esfregaço de sangue e técnica de esfregaço de linha (Cian, 2014).

A técnica de esmagamento/squash é o método preferido para preparar as lâminas de amostras obtidas por punção por agulha fina e raspagens. O material colhido por agulha fina ou raspagem é colocado em direção a uma extremidade de uma lâmina de vidro. Uma segunda lâmina é alinhada perpendicularmente ao primeiro e é permitido repousar no slide contendo o material expelido, deslizando suavemente ao longo do comprimento da primeira lâmina, rodando simultaneamente de uma posição perpendicular para uma posição paralela. Isso resulta na preparação simultânea de dois esfregaços. Deve evitar-se esmagar fisicamente o material, ao causar pressão excessiva, levando à rutura das células e a uma preparação não diagnóstica (Stone & Reppas, 2010).

Os esfregaços devem ser fixados por secagem ao ar. Desta forma, as células ficam presas, aderentes à lâmina e não se soltam durante a coloração. Depois de secas, as lâminas devem ser deixadas ao abrigo da luz e do pó até serem coradas. Regra geral, a coloração não deve ser adiada por muito mais do que 1 a 2 dias (Marcos & Santos, 2011). As duas colorações mais utilizadas são colorações do tipo Romanowsky (Wright Stain®, Giemsa®, Diff-Quik®) e Papanicolau e seus derivados (Meinkoth *et al.*, 2014). As colorações tipo Romanowsky têm boa difusão no mercado, preço acessível e são fáceis de preparar, manter e utilizar. Estas colorações combinam um fixador, normalmente metanol, e corantes básicos e ácidos numa solução aquosa. Na prática clínica, a coloração mais económica, rápida e fácil de usar é a coloração Diff-Quik® (Cian, 2014). Os corantes do tipo Papanicolau fornecem excelentes detalhes nucleares e são rotineiramente usados na citopatologia humana. Contudo, estes corantes exigem vários passos de coloração e não são práticos para uso na maioria das clínicas, pelo que raramente são usados em citologia veterinária, mesmo em grandes laboratórios (Meinkoth *et al.*, 2014).

1.4 Interpretação Citológica

Diversas patologias e lesões de pele podem ser diagnosticadas por avaliação citopatológica sendo que a técnica mais usada é a PAF (Mueller & Bettenay, 2017). Uma das utilidades da citologia é classificar as lesões de modo a auxiliar no diagnóstico, prognóstico e

manejo dos casos clínicos. As interpretações citológicas são, geralmente, como tecido normal ou hiperplásico, massa quística, inflamação ou infiltrado celular, resposta a lesão tecidual e neoplasia. Amostras não diagnósticas resultam, geralmente, de material celular insuficiente, contaminação excessiva por sangue ou células lisadas (Raskin & Meyer, 2010).

As citologias devem, inicialmente, ser observadas ao microscópio ótico nas objetivas de menor ampliação (4X a 10X) para obter uma visualização geral da citologia. A avaliação da celularidade (amostra pouco celular, moderadamente celular ou altamente celular) é importante, embora este seja um conceito relativo, pois está relacionado com a tendência da lesão em esfoliar bem ou mal durante a técnica de colheita da amostra. Por exemplo, a presença de poucas células numa citologia de um sarcoma é esperada, dada a fraca tendência em esfoliar destes tumores. Por outro lado, os tumores de células epiteliais e redondas geralmente esfoliam elevado número de células durante a aspiração. A preservação é essencial para uma interpretação citológica correta e, geralmente, requer observação com as objetivas de 20X a 50X. A presença de células intactas com limites citoplasmáticos e núcleo claramente observados é sinónimo de boa preservação. Quando uma citologia é caracterizada por um grande número de células ruturadas sem citoplasma claro e distinto, a interpretação citológica não é possível. Se esses dois requisitos não forem preenchidos, é provável que a amostra seja de difícil avaliação e não diagnóstica (Cian, 2014).

1.4.1 Submissão e avaliação de amostras para citologia

Ao submeter as citologias para um laboratório de referência, deve ser incluída uma história clínica completa, bem como a localização anatômica exata da lesão. Da parte do citologista, deve ser realizada uma avaliação completa da citologia. É importante evitar um diagnóstico prematuro baseado na avaliação de apenas alguns campos, uma vez que nem todos contêm exatamente as mesmas combinações de células. É muito importante o reconhecimento de células ruturadas de modo a evitar uma incorreta interpretação dos seus constituintes. Após a rutura celular, os detalhes citoplasmáticos podem tornar-se extensivamente alterados e os fragmentos citoplasmáticos podem, por vezes, ser interpretados erroneamente como outros elementos, por exemplo, como agentes infecciosos. Núcleos de células ruturadas podem tornar-se marcadamente túrgidos, levando a uma errada anisocariose que pode ser mal interpretada como um critério de malignidade numa população que não é neoplásica. Evitar áreas mal coradas e reconhecer artefactos é, também, importante (Mueller & Bettenay, 2017).

1.4.2 Pele

A pele é composta por três camadas principais anatomicamente diferentes: a epiderme, a derme com os anexos (folículos e tecido glandular) e a hipoderme ou tecido subcutâneo (Albanese, 2017).

Mais de 90% da epiderme consiste em células nucleadas que amadurecem para se tornarem células anucleadas e completamente queratinizadas. As outras células que constituem a epiderme compreendem os melanócitos e células de Langerhans (células dendríticas apresentadoras de antígeno), que só são detetáveis no caso de processos proliferativos/neoplásicos, que ocorrem nos melanocitomas/melanomas e no histiocitoma cutâneo, respetivamente. Como as células epidérmicas são compostas, principalmente, por queratina, são denominadas queratinócitos, que compõem as quatro camadas (ou estratos) da epiderme: camada basal, espinhosa, granulosa e córnea (Albanese, 2017).

A derme é a porção intermediária da pele localizada entre a epiderme e o tecido adiposo. Anatomicamente é a parte mais complexa da pele, porque é composta por tecido conjuntivo, redes vasculares e nervosas e por anexos representados por folículos pilosos e glândulas sebáceas e sudoríparas. Os fibrócitos/fibroblastos são as células residentes dérmicas mais frequentemente detetáveis em citologias provenientes de lesões inflamatórias da pele. Os fibroblastos são, geralmente, encontrados em amostras de processos de cicatrização de feridas (tecido de granulação) e, nestes casos, não devem ser confundidos com células neoplásicas mesenquimatosas. Os fibroblastos reativos podem apresentar atipia morfológica exuberante, como anisocitose, binucleação, nucléolos proeminentes e muitas mitoses, que se assemelham aos observados em alguns tumores de células fusiformes. No entanto, um pequeno número de fibroblastos pode ser encontrado em todos os processos inflamatórios crónicos uma vez que são inevitavelmente estimulados a reparar danos nos tecidos. As células dendríticas apresentadoras de antígenos também estão presentes na derme, embora sejam poucas e não se distingam de outros histiócitos em amostras citológicas. Uma proliferação reativa ou uma transformação neoplásica de células dendríticas apresentadoras de antígenos dá origem às chamadas doenças histiocíticas, como a histiocitose reativa cutânea/sistémica, sarcomas histiocíticos em cães e a histiocitose progressiva felina em gatos (Albanese, 2017). Os melanócitos, em torno dos vasos e folículos pilosos, particularmente em cães com pele escura, estão fisiologicamente presentes; essas células não são visíveis em citologia até que ocorra a transformação neoplásica (Albanese, 2017).

Os anexos da derme são compostos por folículos pilosos e glândulas sebáceas e sudoríparas (Albanese, 2017). As glândulas sebáceas estão associadas a folículos que

formam a chamada unidade pilossebácea. Na pele canina, algumas glândulas sebáceas modificadas ou especializadas também estão presentes. Devido à sua semelhança microscópica com os hepatócitos, denominam-se de glândulas hepatóides e têm um ducto secretor que se abre para o lúmen folicular. Estas glândulas são, frequentemente, afetadas por alterações hiperplásicas e neoplásicas e localizam-se na área perianal e na glândula da cauda. As outras glândulas presentes na derme são as glândulas sudoríparas. O termo glândulas apócrinas é, geralmente, usado para descrever glândulas quando se fala de glândulas sudoríparas. Em animais de estimação, essas glândulas não têm função termorreguladora. As glândulas apócrinas são, geralmente, observadas no caso de neoplasias benignas ou malignas. Raros agregados apócrinos podem, também, ser observados em amostras provenientes de hamartomas ou doenças inflamatórias. No caso de cães com pioderma profundo, pequenos aglomerados de glândulas sudoríparas e sua secreção, estes últimos representados por material amorfo profundamente azul ou violeta, podem ser colhidos juntamente com células inflamatórias (Albanese, 2017).

A hipoderme ou tecido subcutâneo é representada pelo tecido adiposo, composto por adipócitos maduros em múltiplas camadas de diferentes espessuras, de acordo com a área anatômica. Os adipócitos podem ser observados como células isoladas ou em pequenos e grandes aglomerados (Albanese, 2017). Quando se obtém gordura através da PAAF, como ocorre na tentativa de recolher amostras de uma lesão profunda, geralmente são observadas placas de adipócitos poligonais grandes e não sobrepostos com limites em ângulo (Albanese, 2017).

1.4.3 Células de Lesões Inflamatórias

As células inflamatórias são facilmente obtidas através de qualquer técnica de colheita para citologia (Shelly, 2003). A inflamação é, geralmente, classificada de acordo com o tipo de células presentes: neutrófilos, eosinófilos, macrófagos e linfócitos (inflamação neutrofílica, eosinofílica, granulomatosa e linfocítica, respetivamente) (Cian, 2014). O tipo de células inflamatórias que predominam ajuda a determinar as condições subjacentes; por exemplo, os neutrófilos podem estar associados a agentes infecciosos, reações de corpo estranho, doença imunomediada, lesão química ou necrose tecidual por trauma ou secundária a neoplasia. Uma elevada percentagem de eosinófilos pode estar associada um processo alérgico ou hipersensibilidade, granuloma eosinofílico, infecção parasitária, infecção fúngica, necrose de colágeno ou mastocitoma (Shelly, 2003).

1.4.4 Células de Lesões Neoplásicas

É comum encontrar células neoplásicas e células inflamatórias numa mesma citologia, devido a várias razões: necrose dentro de um tumor, produção de citocinas por células neoplásicas que atraem células inflamatórias, entre outras. É, por isso, muito importante a avaliação minuciosa de uma citologia (Dickinson, 2017).

A neoplasia é, geralmente, caracterizada pela presença de uma população de células monomórfica, que podem ser de origem epitelial, mesenquimatosa ou redonda. A avaliação da morfologia celular, arquitetura e distribuição celular na citologia é importante para definir a sua origem (Cian, 2014).

1.4.4.1 Células Redondas

As células redondas são um grupo de células que se apresentam de forma isolada nos tecidos, não aderidas a outras células ou a uma matriz de tecido conjuntivo e têm origem em diferentes linhas celulares. O reconhecimento de tumores de células redondas é importante porque estas são algumas das neoplasias mais comuns encontradas na prática clínica de animais de companhia. Além disso, as células da maioria dos tumores de células redondas têm características citológicas que são suficientemente distintas para permitir um diagnóstico específico (Meinkoth *et al.*, 2014). Como são células que não aderem a outras estruturas dentro dos tecidos, geralmente esfoliam muito durante a punção por agulha fina. Assim, a celularidade das amostras é, geralmente, elevada. Agregados de células não estão presentes; no entanto, a celularidade extremamente elevada, pode resultar em células sobrepostas em áreas mais espessas da citologia, o que pode ser interpretado erroneamente como adesão celular (Meinkoth *et al.*, 2014). As células isoladas tendem a ser de tamanho pequeno a médio e redondas. Se as células não tiverem sido traumatizadas durante a preparação da amostra, elas tipicamente têm bordos citoplasmáticos distintos (isto é, o limite da célula está bem definido) (Meinkoth *et al.*, 2014).

1.4.4.2 Células Epiteliais

Células epiteliais normais são, com frequência, encontradas em muitas amostras citológicas. O epitélio de superfície estará presente na maioria das raspagens superficiais ou zaragatoas (por exemplo, células escamosas de raspagens de pele e zaragatoas nasais ou vaginais), em lavagens (por exemplo, células colunares de lavagens transtraqueais) e como resultado de esfoliação normal (por exemplo, células de transição de sedimentos de urina). Além disso, as células epiteliais são o principal componente celular das amostras de PAF de

muitos órgãos parenquimatosos (por exemplo, hepatócitos e epitélio do ducto biliar, células tubulares renais) e amostras glandulares (por exemplo, glândula mamária, próstata) (Meinkoth *et al.*, 2014).

A característica principal das células epiteliais é a adesão celular. As células epiteliais normais estão tipicamente presentes em aglomerados de tamanhos diferentes. Células epiteliais normais variam em tamanho de pequenas a grandes (Meinkoth *et al.*, 2014). As células epiteliais têm uma forma variável, variam de forma cuboidal, poligonal e colunar. Estas células têm uma alta tendência para formar aglomerados coesos com diferentes padrões arquitetônicos (pavimentar, acinar, favo de mel, papilar, paliçada e trabecular) (Cian, 2014). São células com limites citoplasmáticos definidos. Os núcleos das células epiteliais são, regra geral, arredondados. Um único nucléolo redondo e pequeno pode ser visível em certos tipos de células epiteliais, como nos hepatócitos e no epitélio tubular renal (Meinkoth *et al.*, 2014).

As células epiteliais podem resultar de uma proliferação hiperplásica ou neoplasia. As células epiteliais de neoplasias benignas podem ser difíceis de distinguir entre células normais ou hiperplásicas, apenas com base na citologia. Células epiteliais que exibem critérios citológicos de malignidade suficientes indicam a presença de um carcinoma ou adenocarcinoma (Meinkoth *et al.*, 2014).

1.4.4.3 Células Mesenquimatosas

Células mesenquimatosas são células que formam o tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e linfáticos. Fibroblastos e fibrócitos são células mesenquimatosas não neoplásicas encontradas, com frequência, em amostras citológicas (Meinkoth *et al.*, 2014). As células mesenquimatosas são células fusiformes onde é comum a observação de limites citoplasmáticos muito indistintos. Células raturadas podem, também, ter limites citoplasmáticos indistintos. Nestas células, a membrana nuclear pode apresentar-se raturada, enquanto o contorno nuclear das células mesenquimatosas intactas é bem definido. Outra característica das células mesenquimatosas é a produção de uma matriz extracelular. Isto é observado como um material eosinofílico variavelmente presente entre as células, mantendo-os em grandes agregados (Meinkoth *et al.*, 2014).

1.4.4.4 Critérios de Malignidade

Existem critérios de malignidade citológicos que devem ser considerados ao avaliar e interpretar as lesões neoplásicas, para que neoplasias benignas possam ser diferenciadas das neoplasias malignas. Termos como anisocitose (variação no tamanho da célula), anisocariose (variação no tamanho nuclear) e pleomorfismo (variação na aparência celular

geral) são termos que ajudam a descrever a morfologia de uma população de células. O reconhecimento de núcleos de tamanho proeminente e variável, padrão de cromatina nuclear variável, variação na composição citoplasmática, presença de células binucleadas/multinucleadas e presença de figuras mitóticas são características adicionais que fornecem informações importantes sobre o comportamento biológico esperado de uma população neoplásica (Dickinson, 2017).

Os critérios citológicos são divididos em gerais e nucleares de malignidade. Os critérios gerais de malignidade avaliam características como anisocitose e a macrocitose, ou seja, a variação do tamanho celular da população e a presença de células excepcionalmente grandes. A presença de células macrocíticas é observada com mais frequência em tumores de origem epitelial. Pode existir um certo grau de anisocitose em qualquer população celular, devendo sempre ser feita uma avaliação cuidadosa de modo a não sobre interpretar as citologias. A hiper celularidade é um critério que é, também, enquadrado nos critérios gerais de malignidade, devendo sempre ser avaliado sabendo de antemão o tecido de onde foram colhidas as células. Este conhecimento é sempre necessário pois em casos de lesões inflamatórias, tecidos linfoides ou outros tecidos compostos por uma população numerosa de células não é correto considerar a hiper celularidade como um critério de malignidade. Por outro lado, amostras muito celulares, compostas por numerosas células mesenquimatosas idênticas, são consideradas um achado suspeito, podendo indicar a presença de um processo neoplásico. A presença de pleomorfismo é, também, normal em alguns tipos de tecidos como o epitélio de transição do trato urinário ou amostras que tenham células escamosas em diferentes estádios de maturação (Meinkoth *et al.*, 2014). Os critérios nucleares de malignidade são mais fidedignos no que toca a auxiliar a decisão do patologista na classificação de uma população celular, sendo menos influenciados por processos não neoplásicos, como a displasia devida a processos inflamatórios. Anisocariose e macrocariose são termos que indicam, respetivamente, a presença de variação no tamanho do núcleo e núcleos excessivamente grandes. Por vezes, em casos onde estejam presentes células epiteliais escamosas, a presença de anisocariose é normal, pois ao longo da maturação destas células o núcleo torna-se cada vez mais pequeno e picnótico. A multinucleação que, tal como o nome indica, é a presença de vários núcleos numa única célula, que pode ser observada em tumores malignos originários em qualquer tipo de célula. Este achado citológico resulta de uma divisão do núcleo que não é acompanhada por uma divisão do citoplasma da célula, sendo importante referir que em células multinucleadas, o número de nucléolos deve ser par e, caso sejam em número ímpar, são indicativos de divisão nuclear atípica e são um importante achado citológico. Existem outras situações onde a multinucleação pode estar presente, tendo como exemplos as lesões inflamatórias, onde podem existir macrófagos

multinucleados ou aspirados de tecido epitelial em processo regenerativo ou hiperplásico. No caso dos plasmocitomas cutâneos, um processo neoplásico benigno, podem também surgir células multinucleadas. As alterações no rácio núcleo-citoplasma (N:C), ou seja, as áreas relativas que são ocupadas pelo citoplasma e pelo núcleo da célula, devem também ser levados em conta aquando da análise citológica. Um rácio N:C baixo indica células com núcleo relativamente pequeno e uma quantidade vasta de citoplasma, contrastando com células com rácio N:C alto, que indicam células com escassa quantidade de citoplasma. As células mesenquimatosas e epiteliais que tenham um rácio N:C elevado, são altamente sugestivas de malignidade. Em certas células pequenas, como os linfócitos maduros, o rácio N:C normal destas células é alto. Já em células grandes e com rácios N:C elevados, esta informação toma maior relevância já que são alterações que indiciam a presença de células fracamente diferenciadas. A existência de uma marcada variação no rácio N:C numa determinada população é um achado citológico relevante; no entanto, esta variação pode ser normal caso esteja a ser avaliada uma citologia de, por exemplo, tecido linfoide normal ou uma raspagem que contenha células escamosas em diferentes estadios de maturação, tendo as células nos dois casos anteriormente referidos uma variação completamente normal no rácio N:C. Outras estruturas que podem apresentar alterações são os nucléolos. Os nucléolos em células normais têm diâmetros entre 1 a 2 micrómetros (μm). Em certos casos existem macronúcléolos e, se o diâmetro destes nucléolos aumentados for superior a 5 micrómetros, consideram-se sugestivos da presença de um processo maligno. Sendo estruturas normalmente redondas, se forem encontradas formas fusiformes, angulares ou pleomórficas a nível do nucléolo são considerados também indicativos de um processo potencialmente maligno. Excluindo os tecidos linfoides e a medula óssea, as figuras mitóticas são achados raros e, assim sendo, o aumento destas figuras mitóticas numa citologia, associada ou não a um desalinhamento dos cromossomas, são outro indicador de malignidade. O aspeto da cromatina pode sugerir em que condições se encontra a célula uma vez que, núcleos com cromatina com padrões muito grosseiros podem sugerir malignidade. É importante realçar que, se por um lado as células diferenciadas têm cromatina condensada, que cora de um roxo escuro, por outro, a cromatina de células imaturas cora em tons mais claros onde é notável a falta de agregados de heterocromatina, que é normalmente descrita como dispersa. Não existe nenhuma característica que diferencie, imediata e irrefutavelmente, uma lesão benigna de uma lesão maligna (Meinkoth *et al.*, 2014). Um diagnóstico de malignidade pode, por norma, ser realizado se três ou mais critérios nucleares estiverem presentes na maioria das células da população que se encontra na citologia. Em caso de dúvida o material deverá ser sempre remetido para histopatologia (Meinkoth *et al.*, 2014).

1.4.5 Agentes Infeciosos

A avaliação de amostras citológicas resulta, frequentemente, na observação de microrganismos, alguns dos quais podem ser agentes etiológicos primários, crescimento secundário oportuno ou parte da flora normal do local amostrado (Cowell & Arndt, 2014). Os tipos mais comuns de organismos encontrados na citologia cutânea são leveduras e bactérias. A levedura mais comum em amostras de cães e gatos é *Malassezia pachydermatis*, embora *Candida spp.* também possa ser encontrada na pele, nos pavilhões auriculares e na cavidade oral. *M. pachydermatis* tem, normalmente, 3 a 5 µm de diâmetro. As contagens médias de leveduras superiores a cinco organismos por campo de 400X são consideradas significativas (Mendelsohn *et al.*, 2006).

A bactéria por *Staphylococcus intermedius* é isolada com frequência em infecções dos ouvidos e da pele de cães e gatos. *S. intermedius* é um coco, com 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, sendo, regra geral, encontrado aos pares. *S. intermedius* e outros cocos podem ser habitantes normais do ouvido e da pele (Mendelsohn *et al.*, 2006). Outra das bactérias mais comuns, especialmente em amostras de ouvido, é *Pseudomonas aeruginosa*. Estas são bacilos com, aproximadamente, 0,3 a 0,8 µm de largura por 1,0 a 1,2 µm de comprimento, sendo por norma encontrados em cadeias curtas. Como *Pseudomonas spp.* e outros bacilos têm, geralmente, alta incidência de resistência a antibióticos, a observação destas bactérias na citologia indica a necessidade de cultura bacteriana (Mendelsohn *et al.*, 2006). Outra bactéria ocasionalmente encontrada é *Simonsiella spp.*, sendo gram negativas filamentosas, saprófitas, habitando a cavidade oral de uma variedade de vertebrados de sangue quente. Apresentam 6 a 8 µm de comprimento e 2 a 3 µm de largura. Geralmente, são encontrados em pequenos números, não são intracelulares e não são conhecidos por serem patogénicos; contudo, quando encontradas em áreas não associadas à cavidade oral, como as dobras labiais ou o plano nasal, a sua presença provavelmente está associada a lambedura (Mendelsohn *et al.*, 2006).

Numerosos dermatófitos e outros organismos fúngicos podem ser encontrados em citologia. Esporos de dermatófitos aparecem, geralmente, como esferas redondas, apresentando cerca de duas vezes o tamanho de bactérias cocos. Os esporos são cercados por uma cápsula que limita a coloração e dá a aparência de um halo claro. O reconhecimento de hifas é um pouco mais desafiador, pois elas podem ser facilmente confundidas com detritos e queratina capilar. As hifas de dermatófitos são estruturas filamentosas uniformes de 2 a 3 µm de largura, muitas vezes com características de coloração fraca e podem aparecer como sombras “semelhantes a resíduos” encontradas na citologia (Mendelsohn *et al.*, 2006).

1.5 Lesões Cutâneas e Subcutâneas - Interpretação Citológica

A abordagem da avaliação citológica de lesões cutâneas e subcutâneas é semelhante a outros tecidos. A citologia é uma poderosa técnica diagnóstica não invasiva, útil para o diagnóstico de lesões cutâneas em cães. Uma abordagem sistemática para a avaliação de citologias, baseada na avaliação da celularidade, preservação celular e principais tipos de células presentes na preparação, é considerada crucial na interpretação correta das amostras citológicas (figura 5) (Cien, 2014).

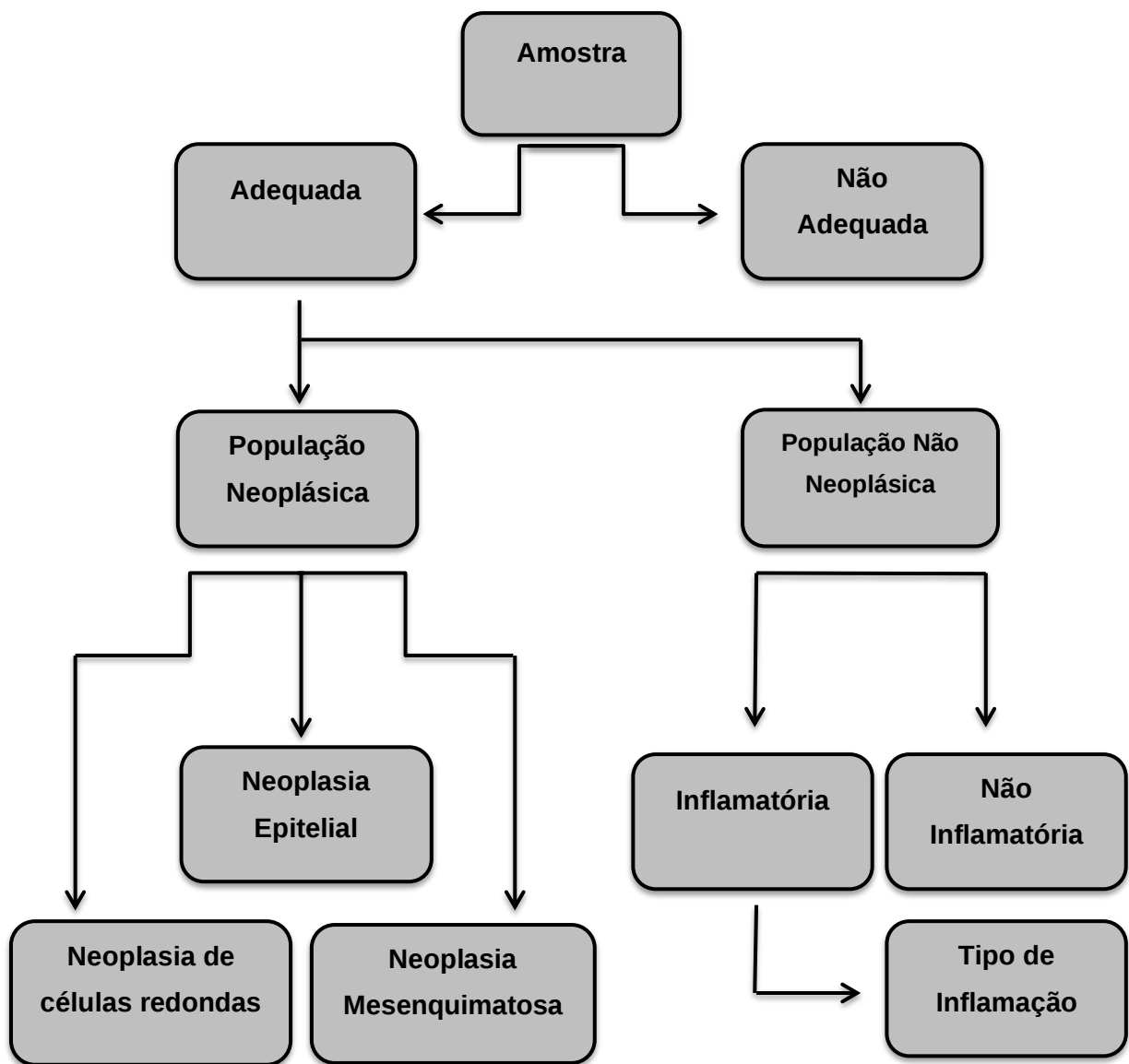


Figura 5: Esquema de orientação no diagnóstico citológico (Adaptado de Peleteiro, 2011).

1.5.1 Lesões Não Neoplásicas

1.5.1.1 Quistos cutâneos

Quistos de inclusão epidérmica (ou quistos epidérmicos) são formados quando as células epiteliais queratinizadas não conseguem esfoliar adequadamente e ficam presas numa camada da epiderme. Quando aspirados, macroscopicamente o conteúdo dos quistos foliculares é branco ou creme e têm uma textura espessa e calcária. Citologicamente, um grande número de células epiteliais anucleadas, queratinizadas e escamosas estão presentes. Também se podem observar cristais de colesterol poligonais claros que são formados a partir da ruptura das membranas celulares. Os quistos foliculares podem apresentar-se inflamados ou infetados, resultando em inflamação neutrofílica, juntamente com os detritos queratinizados (MacNeill, 2011). Os quistos epidérmicos são encontrados num terço das lesões não neoplásicas e não inflamatórias removidas em cães, ocorrendo, mais frequentemente, em animais de idade mais avançada. Os quistos podem ser únicos ou múltiplos, firmes a flutuantes, com uma aparência suave, arredondada e bem delimitada. Estes são, frequentemente, localizados no dorso e nas extremidades (Fisher, 2014). Quistos apócrinos são lesões comuns em cães, que são formados a partir da oclusão do ducto apócrino ou da glândula sudorípara. Na citologia, este fluido é, geralmente, acelular, tendo um fundo claro (Fisher, 2014).

1.5.1.2 Resposta a lesão tecidual

São exemplo deste grupo de lesões benignas o hematoma, o seroma e lesões do tipo calcinose cutânea. Todas estas lesões são preenchidas com fluido e podem necessitar de centrifugação para se avaliar adequadamente as células da amostra (MacNeill, 2011). Citologicamente, os hematomas são hemodiluídos, com baixo número de macrófagos que contêm eritrócitos fagocitados e/ou pigmento azul-esverdeado a preto consistente com hemossiderina (um produto de degradação dos eritrócitos). Ocasionalmente, os cristais de hematóidina, que aparecem como cristais dourados rombóides, podem formar-se a partir do pigmento de hemoglobina pobre em ferro (MacNeill, 2011; Fisher, 2014). Os seromas, fluidos pouco celulares, contêm reduzido número de eritrócitos, raros neutrófilos e, ocasionalmente, macrófagos reativos que contêm vacúolos citoplasmáticos. Não há plaquetas presentes em nenhuma das amostras (MacNeill, 2011; Fisher, 2014). A calcinose cutânea é uma condição incomum de deposição mineral na epiderme, derme ou tecido subcutâneo, e está associada ao uso de glucocorticóides ou hiperadrenocorticismismo e à administração iatrogénica de produtos de cálcio para tratamento de hipoparatiroidismo em cães. Esta envolve a

mineralização distrófica de colágeno ou elastina da pele. As localizações mais comuns são o pescoço, a zona dorsal, a região inguinal e a região axilar. Citologicamente, o material branco e arenoso surge densamente granular no fundo e ocorre uma resposta inflamatória mista, incluindo macrófagos, células gigantes multinucleadas, neutrófilos, linfócitos e plasmócitos. Um subgrupo clínico de calcinose cutânea é a calcinose circunscrita, que é incomum em cães. Esta consiste numa lesão solitária, bem circunscrita na derme profunda e subcutânea formada, pela mineralização distrófica, cuja etiologia é desconhecida, principalmente associado a jovens pastores alemães. As lesões ocorrem, geralmente, em áreas articulares ou pontos de pressão, em locais de traumatismo anterior ou sob a língua. Citologicamente, é semelhante à calcinose cutânea, exceto, na observação mais frequente dos fibroblastos (Fisher, 2014).

1.5.2 Lesões Inflamatórias

Os processos inflamatórios, de um modo geral, reconhecem-se pela presença e/ou predomínio de células inflamatórias. Sob o ponto de vista citológico, estes processos classificam-se pelo tipo de população celular observada e pelas proporções relativas das diferentes células inflamatórias (Marcos *et al.*, 2011). Lesões inflamatórias podem ser neutrofílicas, linfocíticas, piogranulomatosas, eosinofílicas e granulomatosas. As lesões inflamatórias não infecciosas podem, também, apresentar lesões não nodulares ou de massa (por exemplo, máculas, pápulas, pústulas, escamas, crostas, anormalidades pigmentares, placas, escoriações ou ulcerações, fissuras e tratos de drenagem) (Fisher, 2014; Cian, 2014).

A inflamação neutrofílica pode ser estéril ou séptica. A evidência de sinais de degeneração nos neutrófilos pode aumentar a suspeita de um processo séptico. A individualização de bactérias intracitoplasmáticas, dentro dos neutrófilos, é diagnóstica de infeção. A citologia permite a distinção entre cocos e bacilos. A presença de bactérias extracelulares pode significar contaminação ou infeção. A ausência de bactérias não exclui a infeção, sendo por isso nestes casos, recomendada a cultura bacteriana (Cian, 2014).

A inflamação eosinofílica é observada em processos parasitários, alérgicos, reações de hipersensibilidade tipo I, doenças imunomediadas e condições paraneoplásicas. As amostras citológicas destas lesões contêm cerca de 10% de eosinófilos. A inflamação eosinofílica paraneoplásica tem sido descrita em algumas neoplasias, onde se incluem, com frequência, mastocitomas em cães e carcinomas em cães e gatos (MacNeill, 2011).

O aumento do número de macrófagos numa lesão e a presença de células gigantes multinucleadas são alterações características de inflamações granulomatosas. Causas clássicas de formação de granuloma incluem reação de corpo estranho, infeção fúngica,

infecção bacteriana atípica e irritação crônica. Uma população mista de macrófagos e neutrófilos é diagnosticada como inflamação piogranulomatosa. Quando se observa inflamação piogranulomatosa grave, deve fazer-se um exame atento da citologia quanto à presença de elementos fúngicos e bactérias filamentosas (MacNeill, 2011).

Nas lesões com inflamação linfocítica ou linfoplasmocítica, os linfócitos pequenos e bem diferenciados são o tipo de células predominante. A estimulação antigénica é a causa mais comum deste tipo de inflamação e as reações de hipersensibilidade tipo IV devem ser consideradas. Inflamação mista de linfócitos, neutrófilos e macrófagos é observada em lesões inflamatórias crônicas, como os granulomas por lambadura (MacNeill, 2011).

1.5.3 Lesões Neoplásicas

A pele é um local comum de neoplasia em cães. As neoplasias de pele são responsáveis por, aproximadamente, 30% de todas as neoplasias de cães. Os três tumores de pele mais comuns em cães incluem lipoma, adenoma e mastocitoma, sendo responsáveis por mais de 50% de todas as neoplasias cutâneas (Fisher, 2014).

Quando se suspeita de um processo neoplásico com base na apresentação clínica e na predominância de células numa citologia, é de grande importância tentar caracterizar as células como células redondas, células epiteliais ou células mesenquimatosas. Esta categorização ajuda a limitar os possíveis diagnósticos diferenciais. No entanto, algumas neoplasias apresentam citomorfologia mista. Em alguns casos, pode ser difícil fazer a distinção entre células, particularmente com tumores anaplásicos (Fisher, 2014).

As neoplasias de células redondas são, normalmente, altamente esfoliativas e as suas características citológicas levam a um diagnóstico específico. As neoplasias de células redondas incluem mastocitoma, histiocitoma, sarcoma histiocítico, plasmocitoma, linfoma e tumor venéreo transmissível (Fisher, 2014; Tyler *et al.*, 2007).

Neoplasias de células epiteliais têm tendência para esfoliar um grande número de células, que podem surgir em agregados. Alguns tumores epiteliais têm uma aparência citológica que permitem a sua caracterização, tais como, tumor das glândulas perianais ou das células hepatoídes, tricoblastoma, tumor das glândulas dos sacos anais, papiloma, carcinoma de células escamosas, adenoma sebáceo e epitelioma sebáceo (Fisher, 2014).

As neoplasias mesenquimatosas benignas e malignas originam-se em elementos do tecido conjuntivo, como fibroblastos, osteoblastos, adipócitos, miócitos e células de revestimento vascular. Exemplos de neoplasias mesenquimatosas incluem hemangiossarcoma, osteossarcoma, hemangiopericitoma (ou tumor da parede perivascular) e melanoma (Raskin, 2010). As neoplasias malignas de origem mesenquimatosa são sarcomas por definição, embora os nomes de algumas neoplasias não sigam a nomenclatura

padrão (por exemplo, histiocitoma fibroso maligno, hemangiopericitoma). Neoplasias mesenquimatosas benignas tendem a esfoliar poucas células, resultando na dificuldade em obter amostras de qualidade diagnóstica. Em contraste, neoplasias mesenquimatosas malignas podem produzir amostras altamente celulares (Meinkoth *et al.*, 2014). Estas neoplasias têm formas benignas (por exemplo, fibroma) e malignas (por exemplo, fibrossarcoma). Contudo, a menos que exista marcada atipia citológica, fazer essa distinção requer análise histopatológica (Tyler *et al.*, 2007). É importante realçar que as neoplasias de origem mesenquimatosa são, normalmente, difíceis, ou mesmo impossíveis de diferenciar entre si durante a análise citológica (Tyler *et al.*, 2007). A caracterização definitiva de uma lesão como neoplasia mesenquimatosa requer, quase sempre, a histopatologia (Fisher, 2014).

1.6 Lesões cutâneas e subcutâneas mais comuns no cão

1.6.1 Processos Inflamatórios Cutâneos

1.6.1.1 Granuloma por lambedura acral

O granuloma por lambedura acral é uma lesão crônica, provocada por automutilação, cuja base etiológica poderá ser um distúrbio comportamental, picada de inseto, lesão alérgica associada a elevado prurido ou ferida traumática (Marcos *et al.*, 2011), resultando numa lesão em placa espessa, firme e elevada, que muitas vezes se torna ulcerada (Raskin, 2010). Citologicamente, observa-se uma população inflamatória mista com plasmócitos, células epiteliais dos estratos intermédios da epiderme e, eventualmente, queratina resultante da rutura traumática dos folículos pilosos. A lesão pode infectar secundariamente por bactérias e, assim, observam-se neutrófilos degenerados e/ou fagocitose bacteriana. Na maioria das lesões deste tipo já ocorreu alguma fibrose, o que se traduz pela presença de fibroblastos com citoplasma mais basófilo e nucléolos pequenos mas evidentes (Marcos *et al.*, 2011; Raskin, 2010).

1.6.1.2 Paniculite

A paniculite é uma inflamação frequente em cães podendo ter origem traumática, metabólica ou idiopática (Marcos *et al.*, 2011). As lesões apresentam-se solitárias ou múltiplas, firmes a flutuantes, elevadas e bem demarcadas. Estas podem conter um líquido oleoso, amarelo-acastanhado, sendo o material aspirado destas lesões, regra geral, gorduroso, permanecendo na lâmina sob a forma de pequenas gotículas transparentes que

não secam (Marcos *et al.*, 2011; Raskin, 2010). Microscopicamente, observam-se em pano de fundo vacúolos opticamente vazios, de diferentes tamanhos, mas sempre de perfil arredondado rodeados por macrófagos, muitos deles espumosos. Também estão presentes neutrófilos não degenerados e, ocasionalmente, células gigantes de corpo estranho. A observação de linfócitos e plasmócitos é variável (Marcos *et al.*, 2011).

1.6.1.3 Lesões por Corpo Estranho

As lesões por corpo estranho perfurantes (material vegetal, pequenos objetos metálicos, fragmentos de vidro, fragmentos de fio de sutura) provocam uma resposta inflamatória representada, principalmente, por neutrófilos e macrófagos, por vezes sob a forma de células epitelioides e/ou células gigantes. Na maioria dos casos, o corpo estranho é estéril e, por isso, não há componente bacteriano e os neutrófilos não estão degenerados. No caso de reações de corpo estranho à queratina, são observadas escamas córneas de coloração azulada em quantidade variável, que podem surgir rodeadas por células inflamatórias. Nestas lesões inflamatórias em que existe queratina livre, seja num contexto de reação de corpo estranho por ruptura de quisto/tumor do folículo piloso, seja em situações de piodermatite com foliculite/furunculose associada, é frequente encontrar alguns eosinófilos. Alguns veículos de vacina ou fármacos injetados subcutaneamente (particularmente antibióticos) podem, também, induzir uma resposta inflamatória de tipo corpo estranho. Nestas reações os linfócitos podem ser abundantes e o material estranho surge sob a forma de precipitados amarelados mais ou menos escuros que, por vezes, formam estruturas semelhantes a cristais. Células fusiformes reativas demonstrando alguns sinais de atipia (cromatina gromosa, nucléolos evidentes, aumento do rácio N:C), podem surgir em quantidade variável (Marcos *et al.*, 2011; Raskin, 2010).

1.6.1.4 Infecções Bacterianas

No caso da pele, a identificação de flora bacteriana, na ausência de resposta inflamatória e de imagens de fagocitose de bactérias, é indicativa de contaminação da amostra ou de flora normal. Já a observação de uma população de bactérias monomórfica, e de neutrófilos com variável grau de degeneração nuclear e, sobretudo, com fagocitose de algumas dessas bactérias, é a base para o diagnóstico de infecção cutânea bacteriana (figura 6) (Marcos *et al.*, 2011).

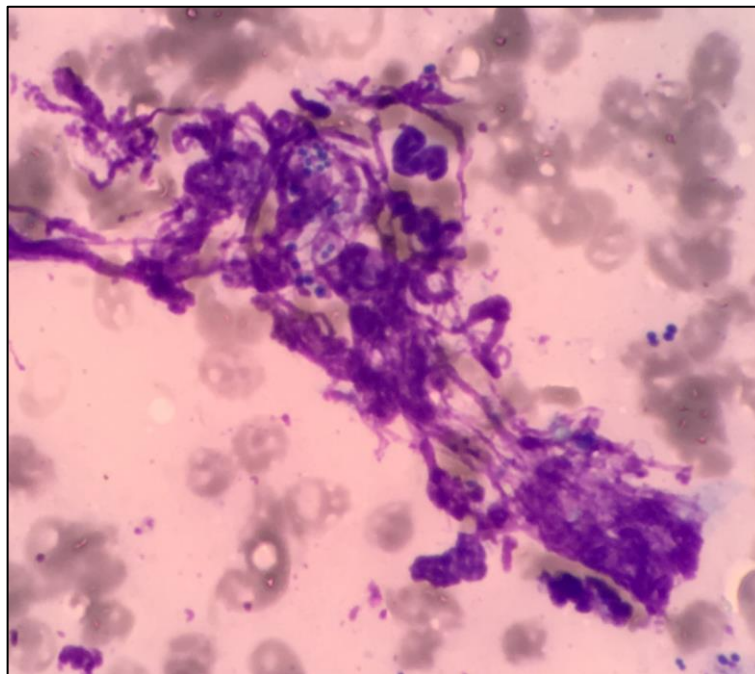


Figura 6: Processo inflamatório supurativo séptico (presença de bactérias compatíveis com cocos) (x400). Original da autora.

Na pele, as infecções bacterianas podem apresentar-se sob a forma de pústulas, fístulas, úlceras ou abscessos. O abscesso, que será de todas as lesões a que mais frequentemente poderá ser aspirada para diagnóstico, é uma lesão subcutânea correspondente a uma coleção de pús que macroscopicamente surge como material cremoso, mais ou menos gromoso e que, citologicamente, se caracteriza como exsudado neutrofílico, com graves sinais de degeneração dos neutrófilos, e numerosas bactérias fagocitadas e/ou livres (Marcos *et al.*, 2011; Raskin, 2010). O estudo do tipo de bactérias presentes é importante, porque dará indicações quanto à escolha do antibiótico mais adequado. As bactérias cocóides patogénicas são, geralmente, Gram positivas. A observação de agregados de 2 a 12 cocos é característica do género *Staphylococcus*, sendo que *Staphylococcus pseudointermedius* é o agente mais frequentemente isolado em infecções cutâneas, aparecendo em grupos de dois diplococos. Já o género *Streptococcus* caracteriza-se pela formação de cadeias de comprimento variável. Ao contrário dos cocos, as bactérias do tipo bastonete são predominantemente Gram negativas. É importante referir que a coloração de Gram pode ser aplicada nas preparações citológicas, mesmo nas que se encontram já coradas por colorações do tipo Romanowsky. A identificação de bastonetes de grandes dimensões e formadores de esporos é sugestiva do envolvimento de bactérias gram positivo do género *Clostridium* ou *Bacillus* (Marcos *et al.*, 2011).

A presença de longos filamentos bacterianos em amostras citológicas deverá levantar a suspeita de infecção por *Nocardia* ou *Actinomyces spp.*. Com corantes do tipo

Romanowsky, estes filamentos apresentam, caracteristicamente, pequenas pontuações de cor rosa ou púrpura, espaçadas de um modo intercalado, ao longo do filamento (Marcos *et al.*, 2011).

1.6.1.5 Infecções Micóticas/Fúngicas

A maioria da patologia micótica de pele. Em Portugal, corresponde a infeções por dermatófitos (isto é, fungos do género *Microsporum* e *Trichophyton spp.*) que, tipicamente, colonizam os pelos e os folículos pilosos. Em esfregaços citológicos obtidos por raspagem das lesões descamativas causadas por estes fungos, ou em pelos removidos das áreas perialopécicas, podem observar-se esporos e hifas associados a pelos. Em algumas situações, e após a rutura dos folículos, os esporos e hifas fúngicas podem ter acesso à derme; nesse caso, forma-se lesão nodular citologicamente caracterizada por inflamação piogranulomatosa, sem sinais degenerativos dos neutrófilos, podendo-se encontrar esporos fagocitados em macrófagos e livres associados a fragmentos de pelos resultantes da furunculose existente (Marcos *et al.*, 2011).

As leveduras do género *Malassezia spp.* (nomeadamente *Malassezia pachydermatis*) são organismos comensais da pele, mas podem estar envolvidas primária ou secundariamente em infeções da pele e do canal auditivo. Na pele produzem inflamações mistas com linfócitos, macrófagos e neutrófilos, encontrando-se, frequentemente, aderentes a escamas de queratina. Estas leveduras são relativamente fáceis de identificar, apresentando caracteristicamente gemulação (*budding*) com base larga que lhes confere uma forma de pegada (Marcos *et al.*, 2011).

Outras infeções fúngicas que surgem associadas a lesões cutâneas são a histoplasmose, a blastomicose, a coccidiomicose e a criptococose; contudo, à exceção da última estas infeções são muito raras no nosso País. Os criptococos são facilmente identificáveis em esfregaços citológicos, como estruturas redondas a ovais, com dimensões variando de 5 a 30 µm. Caracteristicamente, apresentam um halo periférico não corado correspondente à cápsula. Imagens de *budding* de base estreita podem ser observadas. Um pequeno número destas estruturas fúngicas pode aparecer fagocitado em macrófagos, embora o mais comum seja a presença de grande número de estruturas dispersas em pano de fundo. As células inflamatórias estão, regra geral, presentes em pequeno número (dado o estado de imunossupressão do animal e a baixa antigenicidade da cápsula fúngica) (Marcos *et al.*, 2011).

1.6.1.6 Outras infecções

Os ectoparasitas, nomeadamente, a presença de ácaros, são uma causa comum de doença de pele em cães (Fisher, 2014). Ácaros do gênero *Demodex spp.* (figura 7) são habitantes normais da pele, encontrando-se 99% dos mesmos no folículo piloso. A demodecose canina apresenta três quadros clínicos: localizada, pododemodecose e generalizada. Nos cães, os ácaros responsáveis pela demodecose são *Demodex canis*, *Demodex injai* e *Demodex cornei*. As amostras devem ser colhidas de lesões compatíveis com demodecose, como, pápulas foliculares, pústulas foliculares, comedões, eritema, hipotricose e alopecia (Vich, 2018). O diagnóstico é baseado na história clínica e observação por exame microscópico do material de raspagem de pele, tricograma ou fita-cola (Fisher, 2014; Vich, 2018).



Figura 7: Presença de *Demodex spp.* (x100). Original da autora.

As formas amastigotas de *Leishmania spp.* (figura 8) podem, ocasionalmente, ser encontradas em lesões cutâneas, quer no interior de macrófagos, quer sob a forma livre, devido à rutura das células que as continham. São organismos de reduzidas dimensões (2-4 μm) e com uma forma alongada; o citoplasma não cora, mas o núcleo redondo e o cinetoplasto alongado surgem corados. A forma cutânea desta infeção induz um processo inflamatório granulomatoso ou misto, associado a fibrose envolvente, que em citologia é perceptível pela presença de fibroblastos com núcleos mais volumosos que o habitual (Marcos *et al.*, 2011).

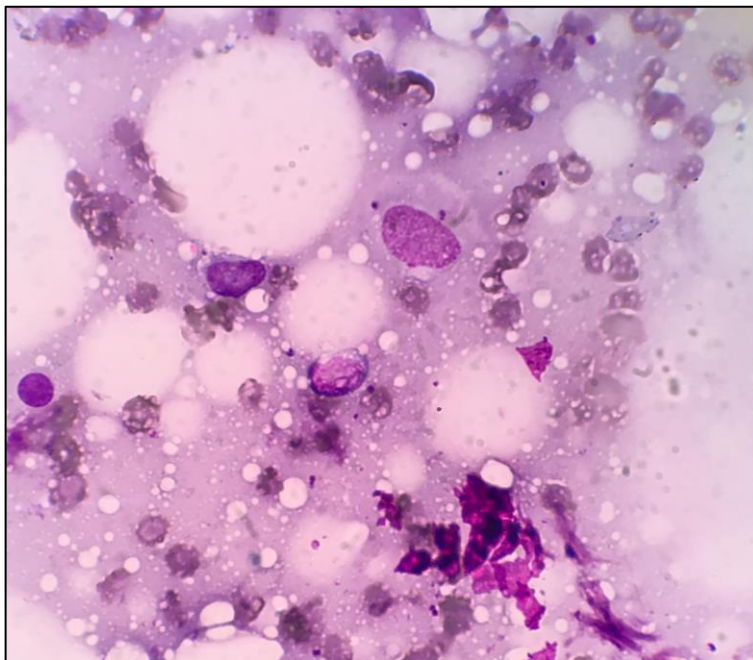


Figura 8: Granuloma com presença de *Leishmania* spp. (x400). Original da autora.

1.6.2 Lesões Neoplásicas

As neoplasias cutâneas e subcutâneas encontram-se entre as mais prevalentes e são, sem dúvida, a indicação mais frequente para análise citológica. Para o cirurgião há uma inegável vantagem em saber que tipo de lesão irá extirpar. O melhor exemplo desta situação é o caso dos mastocitomas, cuja remoção cirúrgica deve ser feita com amplas margens, atendendo à elevada capacidade de infiltração das células tumorais. Se a lesão é desconhecida e a excisão for realizada sem margens amplas, a recidiva é muito provável. Há, ainda, outras neoplasias que devem ser reduzidas por quimioterapia previamente à excisão, o que confirma os benefícios do diagnóstico precoce e prévio à cirurgia (Marcos *et al.*, 2011).

De seguida, segue uma breve descrição das neoplasias cutâneas e subcutâneas mais comuns no cão.

1.6.2.1 Mastocitoma

O mastocitoma canino (figura 9) é uma das neoplasias cutâneas mais frequentes no cão, que representa cerca de 21% de todos os tumores de pele no cão. Este tumor tem especial incidência nas raças: Boxer, Golden Retriever, Labrador Retriever, Pug e Boston Terrier (Marcos *et al.*, 2011; Camus *et al.*, 2016).

Os mastocitomas podem ser considerados um dos tumores mais facilmente diagnosticáveis através de métodos citológicos, devido à boa coloração que os grânulos dos

mastocitomas adquirem aquando da coloração. A chave para a facilidade no diagnóstico deste tipo de tumores é a presença de grânulos citoplasmáticos em número variável, com aspeto fino ou grosseiro, no interior de uma célula de núcleo redondo e com grande quantidade de citoplasma pálido. Os mastocitomas ocorrem na pele de cães e gatos, embora possam surgir noutras localizações tais como fígado, baço e intestino. A aparência destes tumores é muito variável, podendo surgir eritematosos, alopecicos, em forma de massas ou placas edematosas, podendo, em certos casos, ulcerar. A contaminação do aspirado com sangue pode acontecer, sendo também comum a presença variável de algumas células inflamatórias. Os mastócitos têm um núcleo de tamanho médio e forma redonda com uma quantidade moderada de citoplasma. A presença de numerosos grânulos pequenos e de cor roxa podem impedir uma correta visualização dos detalhes nucleares e citoplasmáticos. Em certos casos, o número de grânulos intracelulares está claramente diminuído, o que pode ser indicativo da presença de um mastocitoma de alto grau (Fisher, 2014).

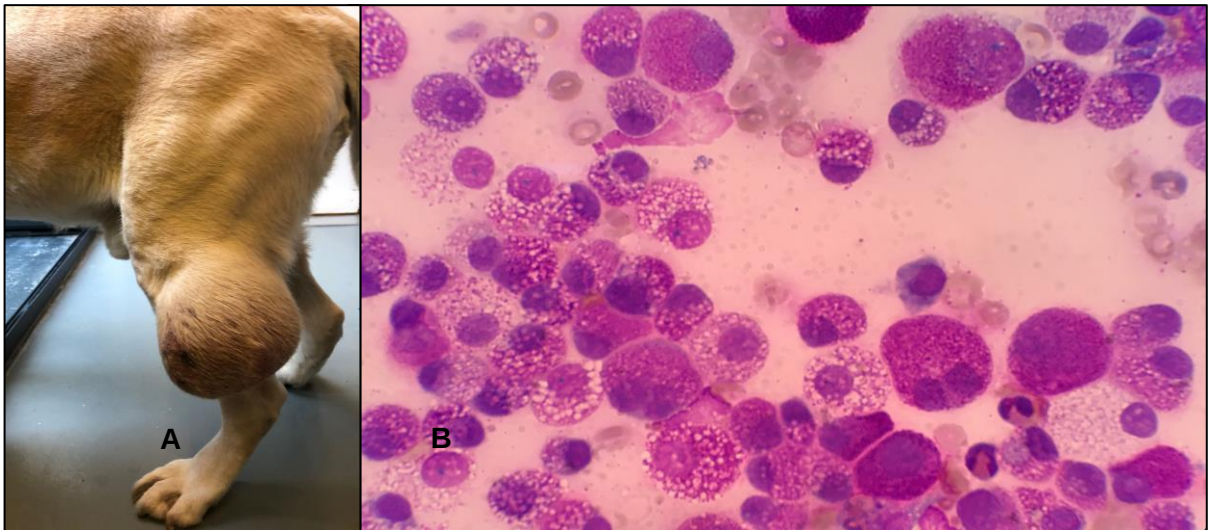


Figura 9: A) Presença de mastocitoma no membro pélvico esquerdo de um cão. B) Mastocitoma (x1000). Original da autora.

Existem três esquemas de classificação histológica, mas os mais utilizados são o sistema de Patnaik e o sistema Kiupel (Camus *et al.*, 2016). Como se pode observar na tabela 4, no sistema de Patnaik os mastocitomas são classificados em três graus (I, II, III).

Tabela 4: Classificação histológica do sistema de Patnaik (Adaptado de DeNicola, 2014).

Sistema Patnaik	Classificação Histológica
Grau I	Bem diferenciado, geralmente bem definido, superficial, índice mitótico baixo.
Grau II	Moderadamente diferenciado, moderado a pouco circunscrito, infiltração leve a moderada em tecidos dérmicos profundos, índice mitótico moderado, atipia citomorfológica leve.
Grau III	Potencialmente indiferenciado, pouco circunscrito, infiltração profunda no tecido subcutâneo, índice mitótico elevado, atipia citomorfológica moderada.

O sistema Kiupel é um esquema de classificação histológica de dois níveis, mastocitoma de baixo grau e de alto grau. Os critérios usados para este sistema são cariomegalia, número de figuras mitóticas, multinucleação e núcleos bizarros. Estas características são facilmente identificadas na citologia e, por isso, um esquema de classificação citológica para mastocitomas em cães pode ser útil. O uso de graduação citológica pode ajudar a planejar o tratamento e a fornecer informações prognósticas importantes antes da intervenção cirúrgica (Camus *et al.*, 2016). Camus e colaboradores (2016) propõem o uso de um sistema de graduação citológica em que os mastocitomas são considerados de alto grau se houver pouca granulação ou a presença de duas das seguintes características: presença figuras mitóticas, pleomorfismo nuclear, binucleação ou multinucleação ou anisocariose marcada (> 50% da variação no tamanho do núcleo).

1.6.2.2 Histiocitoma

O histiocitoma cutâneo canino (figura 10) é uma neoplasia benigna, de crescimento rápido, muito frequente nos cães de idade jovem (geralmente com menos de 2 anos de idade), mas também podem ser observados em cães mais velhos (Marcos *et al.*, 2011; Fisher, 2014). Tem origem nas células de Langerhans da pele e surge, geralmente, como um nódulo único, bem delimitado, cupuliforme, acompanhado de alopecia. A ulceração superficial é comum. Atinge sobretudo a cabeça, pavilhão auricular, membros e tronco. No exame citológico ir-se-á observar numerosas células de perfil arredondado, de citoplasma abundante, claro ou levemente basófilo e com limites pouco distinguíveis. O núcleo é de perfil esférico, oval ou

reniforme de cromatina fina e nucléolo indistinto. O grau de anisocitose e anisocariose é baixo (Marcos *et al.*, 2011). As células podem ser observadas em agregados mas não são coesivas (Fisher, 2014).

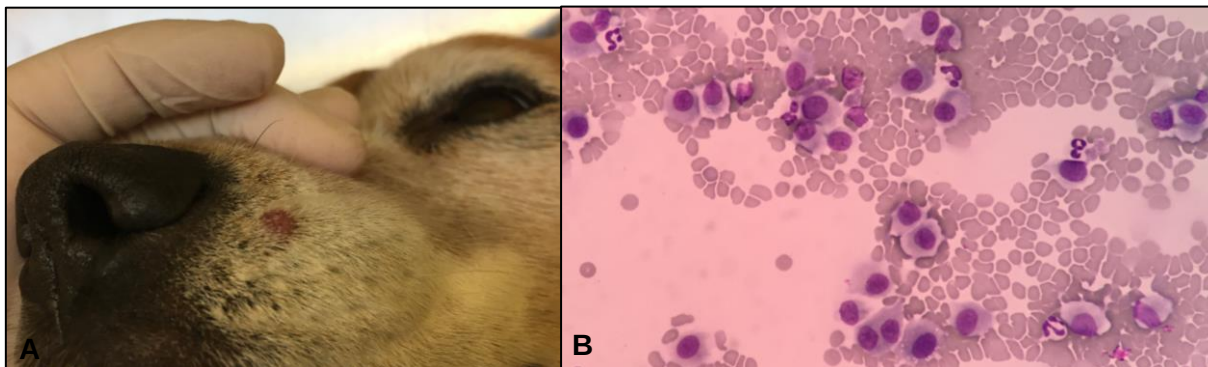


Figura 10: A) Presença de um histiocitoma num cão. B) Neoplasia de células redondas, compatível com um histiocitoma (x400). Original da autora.

1.6.2.3 Papiloma

Os papilomas são neoplasias comuns em cães (Fisher, 2014). Estes são tumores benignos do epitélio escamoso, apresentando-se como massa de crescimento exofítico com perfil variável. Podem surgir como uma massa singular ou múltipla, que pode exibir forma nodular a pedunculada. São lesões que surgem de forma mais comum na cabeça e nas extremidades. As amostras aspiradas dos papilomas são moderadamente celulares, com presença de células individuais que, normalmente, se assemelham a células epiteliais escamosas (Fisher, 2014; Marcos *et al.*, 2011).

1.6.2.4 Tricoblastoma

O tricoblastoma é um tumor de características benignas, que se pensa ter origem nas células-mãe basalóides que se identificam na base dos folículos pilosos (Marcos *et al.*, 2011). É um dos tumores de pele mais comum no cão, tomando a forma de massas solitárias, firmes, alopecicas em forma de cúpula ou polipoide e que podem ulcerar quando atingem maiores dimensões. São, preferencialmente, identificados na cabeça e pescoço (Fisher, 2014). Os aspirados destas lesões tendem a ser moderada a altamente celulares, com aglomerados em forma de paliçada ou trabecular. As células caracterizam-se por um tamanho pequeno a moderado, núcleo redondo com pouca quantidade de citoplasma. Por vezes, é visível um material que cora de rosa ao redor da periferia dos aglomerados celulares, que pode ser identificado como membrana basal (Fisher, 2014).

1.6.2.5 Carcinoma das Células Escamosas

Os carcinomas das células escamosas (figura 11) são comuns em cães e podem surgir em qualquer localização da pele embora ocorram, mais frequentemente, em áreas suscetíveis a lesões derivadas da exposição solar. Têm uma maior incidência em cães de pelo curto e surgem, regra geral, no abdômen ventral e flanco (Fisher, 2014). Nos cães, o carcinoma do leito ungueal possui um comportamento agressivo, com extensa infiltração tecidual e ocasional metastização linfática (Marcos *et al.*, 2011). Na maioria dos casos surge como lesão ulcerada ou nódulo com crescimento infiltrativo, destruindo os tecidos envolventes (Marcos *et al.*, 2011). Estes tumores podem ser alopecicos, eritematosos e ulcerados, sendo frequente a presença de crostas. Colher amostras destas massas pode ser complicado devido à falta de massas distintas e ulceração das mesmas. Para além disso, a queratina que é produzida por este tipo de tumores, pode induzir uma reação inflamatória marcada, resultando num aumento de dificuldade de interpretação citológica. No caso de ser possível colher material através de aspiração, é esperado que a amostra seja altamente celular. Em casos onde a aspiração seja impossível, a realização de uma raspagem nos limites da lesão pode ter valor de diagnóstico. As células surgem, normalmente, em grupos ou individualmente. Os seus núcleos variam em termos de tamanho e de condensação de cromatina, sendo os nucléolos, regra geral, indistintos. Algumas das alterações visíveis aquando da avaliação citológica são anisocitose, anisocariose e vacuolização perinuclear moderada a marcada, imagens mitóticas e citoplasma com diferentes colorações, variando entre azul-escuro e claro. Durante a avaliação da lâmina é possível identificar células grandes, repletas de citoplasma maturo que cora de azul-claro, com um núcleo grande e imaturo que contém cromatina não condensada. Estas células demonstram assincronia na maturação do núcleo e do citoplasma (Fisher, 2014). É frequente este tipo de tumores ser acompanhado de inflamação purulenta, com numerosos neutrófilos, geralmente degenerados, associados às células queratinizadas. Pode, ainda, verificar-se a presença de inúmeras bactérias resultantes de infeção secundária à ulceração (Marcos *et al.*, 2011).

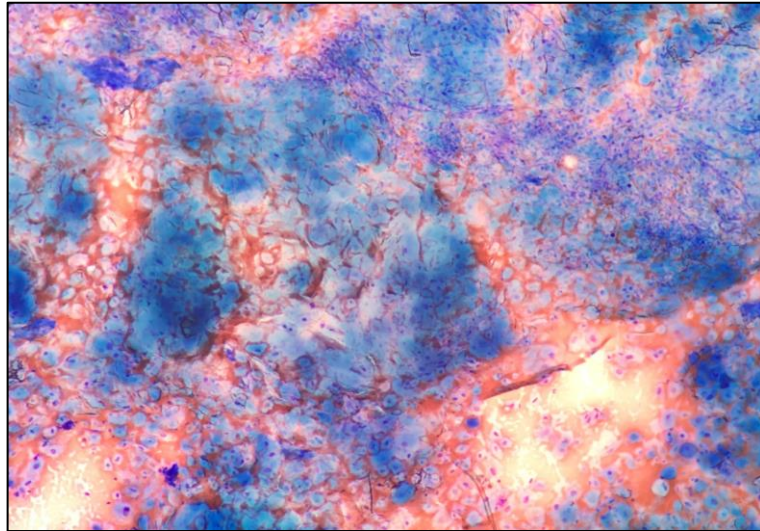


Figura 11: Carcinoma de células escamosas (x100). Original da autora.

1.6.2.6 Tumor das Glândulas Perianais ou Tumor das Células Hepatóides

Os tumores das glândulas perianais (figura 12) são particularmente comuns em cães machos, idosos e inteiros. A sua localização típica é a zona perianal, embora possam surgir noutras localizações como o períneo, o prepúcio, a coxa e na parte dorsal da zona lombo sagrada. Podem surgir como massas individuais ou múltiplas que, enquanto pequenas, tomam uma forma esférica ou ovoide mas que, ao crescerem, podem tornar-se multinodulares e ulceradas. As amostras resultantes dos aspirados destas lesões são muito esfoliativas e, consequentemente, muito celulares, caracterizados por conjuntos de células grandes, ovoides ou cuboides com núcleos dispostos excentricamente e abundante citoplasma granular e cor-de-rosa, que se dispõem em agregados. Os tumores das glândulas perianais são, por norma benignos. No entanto, a citomorfologia não se correlaciona bem com o comportamento clínico do tumor, devendo sempre ser feita a análise histopatológica da lesão de modo conhecer a sua caracterização definitiva (Fisher, 2014).

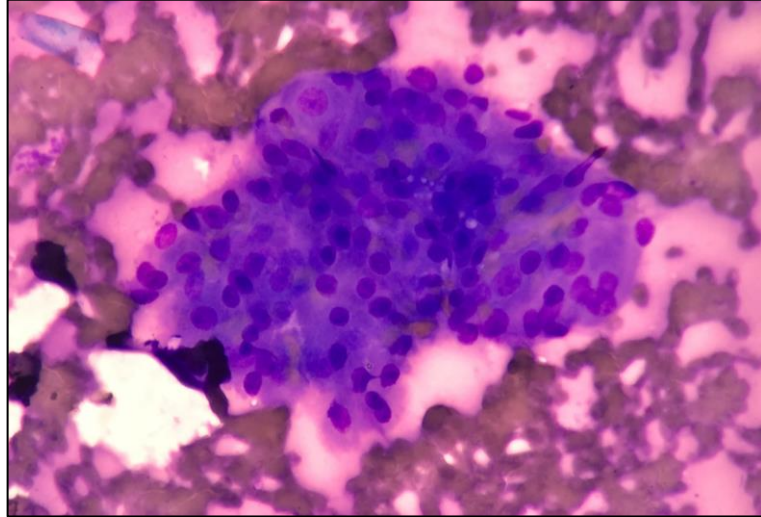


Figura 12: Tumor das glândulas perianais (x100). Original da autora.

1.6.2.7 Adenoma Sebáceo/Epitelioma Sebáceo

O adenoma sebáceo (figura 13) corresponde a proliferação bem diferenciada, benigna, das glândulas sebáceas (Marcos *et al.*, 2011). É frequente no cão, particularmente no cão idoso e ocorre com maior frequência nos membros, tronco e pálpebras. As lesões surgem como uma única massa, bem circunscrita, ligeiramente elevada, com uma superfície que pode ir de suave a lobular ou verrugosa. Os aspirados são moderadamente celulares, com grupos de células de tamanho variável, constituídos por células muito vacuolizadas e minimamente pleomórficas. Estas células vacuolizadas têm um rácio N:C reduzido e sem figuras mitóticas evidentes. As células de adenomas sebáceos são bem diferenciadas sendo impossível a sua distinção com células hiperplásicas (Fisher, 2014).

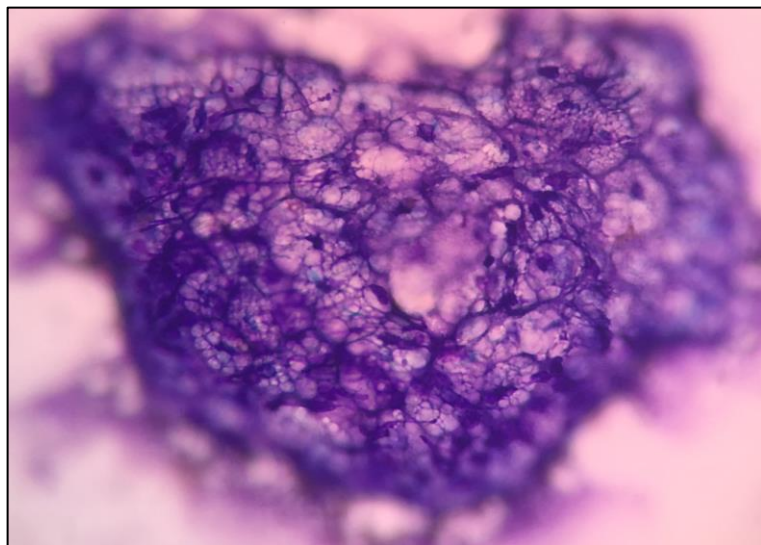


Figura 13: Adenoma sebáceo (x400). Original da autora.

O epitelioma sebáceo é uma neoplasia comum no cão, que pode atingir grandes dimensões, vindo a ulcerar com frequência. Para além da multiplicação de ácinos sebáceos, há ainda proliferação e predominância de células epiteliais de perfil basalóide. No exame citológico observam-se agregados celulares de perfil basalóide de citoplasma intensamente basófilo, por vezes rodeado de sebócitos bem diferenciados (Marcos *et al.*, 2011).

1.6.2.8 Lipoma

O lipoma (figura 14) é um tumor benigno com origem nos adipócitos e é muito comum nos cães, particularmente nos obesos. Podem apresentar-se como uma massa individualizada, embora também como múltiplos nódulos, localizando-se com maior frequência nos tecidos subcutâneos sobre o tórax, abdómen, coxas e zonas distais dos membros. São tumores que raramente ulceram e são identificados como massas de consistência média a branda, geralmente móvel (Marcos *et al.*, 2011; Fisher, 2014). Citologicamente observam-se adipócitos bem diferenciados dispersos ou formando agregados de dimensão variável (Marcos *et al.*, 2011). Juntamente com os adipócitos podem ser encontrados pequenos números de células fusiformes e lípidos livres. Após a deposição do material aspirado, as lâminas, adquirem uma aparência oleosa. Os adipócitos que constituem os lipomas não podem ser diferenciados das células que compõem a gordura subcutânea; assim, quando são realizados aspirados para colher material de massas subcutâneas é essencial evitar ao máximo não aspirar as zonas adjacentes à massa, de modo a evitar contaminação das lâminas (Fisher, 2014).

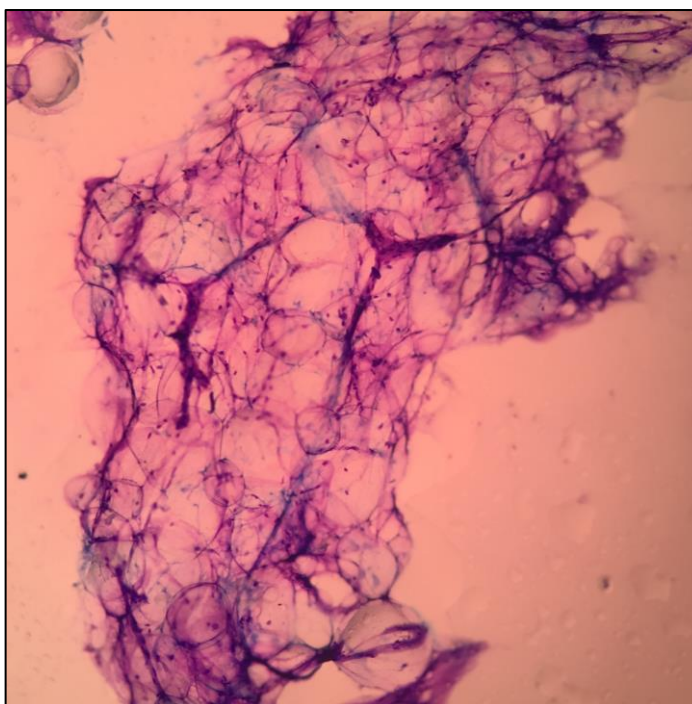


Figura 14: Lipoma ou aspiração de gordura tecidual (x400). Original da autora.

1.6.2.9 Melanocitoma/ Melanoma

A terminologia para classificar os tumores melanocíticos é complexa mas, regra geral, usa-se o termo melanocitoma para definir uma neoplasia benigna e melanoma para neoplasia maligna. Os tumores melanocíticos são relativamente comuns em cães. Quando envolvem apenas a pele são, na maioria dos casos, benignos. Estes tumores ocorrem, geralmente, em animais mais velhos. São neoplasias isoladas e ocorrem, principalmente, na cabeça, pescoço, tronco e membros (Fisher, 2014). Os melanocitomas são comuns no cão, constituindo 3 a 4% de todos os tumores cutâneos. Estes podem ocorrer em qualquer parte do corpo. O diagnóstico no exame citológico pode ser simples, caso a neoplasia seja bem ou moderadamente diferenciada, pela identificação de células contendo finas granulações de cor negra ou castanho-escura (Marcos *et al.*, 2011). Nos melanomas, os sinais de malignidade celular podem ser muito acentuados, com pleomorfismo evidente e anisocitose e anisocariose muito marcadas. Por vezes, o grau de pigmentação é muito baixo ou quase ausente, o que torna o diagnóstico num verdadeiro desafio. Regra geral, há sempre uma ou outra célula com fina granulação negra ou verde-escura que permite o diagnóstico de melanoma amelanócito (Marcos *et al.*, 2011).

O presente estudo compreendeu os seguintes objetivos:

1. Avaliar a análise citológica como ferramenta útil e acessível, de rápida execução que não requer equipamento sofisticado, no diagnóstico das lesões cutâneas e subcutâneas mais comuns no cão.
2. Avaliar a utilidade da citologia na exclusão de alguns diagnósticos diferenciais e orientar a escolha de exames complementares de diagnóstico adicionais, que permitam chegar ao diagnóstico.
3. Avaliar a importância do uso da citologia como técnica de diagnóstico, em Medicina Veterinária, em particular, nas áreas de Medicina Interna, Oncologia e Dermatologia.

2 Material e Métodos

O presente trabalho consistiu num estudo prospetivo das análises citológicas realizadas no Laboratório de Análises Clínicas e Histopatológica (LACH) do Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (FMV-ULHT), realizadas durante o período de estágio entre 17 de Setembro de 2018 e 31 de Janeiro de 2019.

2.1 Critérios de inclusão

No estudo foram incluídas análises citológicas realizadas no LACH, provenientes de cães que se apresentaram a consulta no Hospital Escolar Veterinário na FMV-ULHT com lesões cutâneas e/ou subcutâneas, independentemente da área de especialidade.

2.2 Critérios de exclusão

Neste estudo não foram incluídas as análises citológicas auriculares, com origem na glândula mamária e linfonodos periféricos.

2.3 Recolha de amostras e dados clínicos

No presente trabalho foram estudadas 119 análises citológicas relativas a 63 cães. Todas as análises citológicas representaram lesões cutâneas e/ou subcutâneas, utilizando as variadas técnicas de colheita de amostras em ambiente de consulta, mediante o tipo de lesão, nomeadamente, punção aspirativa, aposição, raspagem de pele, fita-cola e através da avaliação de tricogramas. As lâminas com a amostra foram previamente identificadas com o nome do animal e enviadas para o LACH juntamente com a respetiva requisição preenchida pelo Médico Veterinário assistente. Os dados fornecidos na requisição (anexo I) foram os seguintes: dados do animal, tutor, data da colheita da amostra e envio para análise, descrição da lesão e amostra, técnica utilizada e história clínica. Consoante o tipo de amostra, estas foram processadas com o objetivo de conseguir uma monocamada de células bem

preservadas que pudesse ser observada e identificada pelo patologista. O material aspirado da lesão que continha sangue e/ou líquido foi preparado utilizando a técnica de esmagamento.

As lâminas foram secas ou agitadas ao ar com alguns movimentos suaves e fez-se a identificação com um código único utilizado em todas as análises laboratoriais do LACH. Depois de secas, as lâminas foram coradas, com uma coloração do tipo Romanowsky, MGG Quick Stain® (figura 15), e as preparações citológicas foram observadas ao microscópio. O protocolo de coloração do LACH encontra-se para consulta no anexo II. No final de cada análise citológica foi realizado o respetivo relatório citológico e este foi anexado na ficha clínica do animal no Software Boomed®.

Os dados foram obtidos através da preparação e observação das análises citológicas, bem como, da consulta dos respetivos relatórios citológicos e fichas clínicas dos animais armazenados no Software Boomed®.

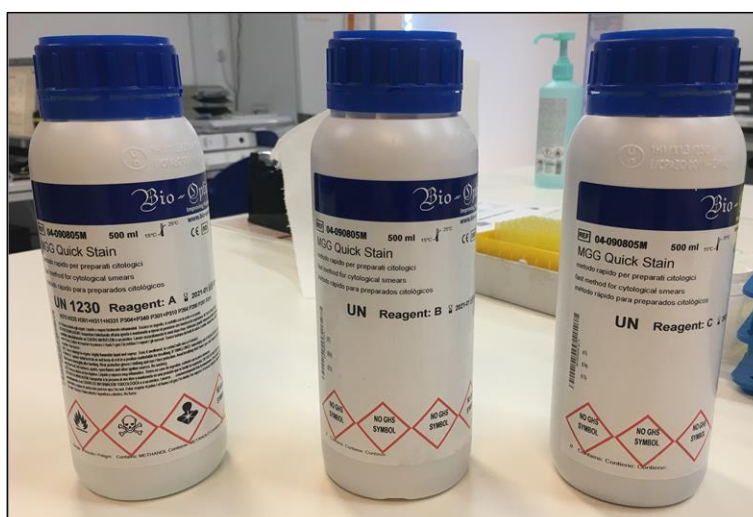


Figura 15: Coloração MGG Quick Stain®. Original da autora.

2.4 Análise estatística

Os dados foram inseridos em base de dados no Microsoft Office Excel 2010, tendo, posteriormente, sido submetidos a análise estatística descritiva. Para todas as análises citológicas foi recolhido o seguinte conjunto de dados: nome, idade, sexo, raça, espécie, localização da lesão, técnica de colheita utilizada e resultado da análise citológica.

3 Resultados

Dezoito dos 63 cães em estudo apresentavam várias lesões, resultando num total de 119 análises citológicas recolhidas e analisadas. Dos cães que foram submetidos a análise citológica 49% (31/63) não tinham raça determinada, ou seja, sem raça definida (SRD), sendo que os restantes cães apresentavam raça pura. As raças com maior número de animais foram o Labrador Retriever e Buldogue Francês, ambos com 8% (5/63) dos animais, como se pode observar no tabela 5.

Tabela 5: Raças de cães submetidos a análise citológica.

Raça	Nº de Animais
SRD	31
Buldogue Francês	5
Labrador Retriever	5
Pastor Alemão	3
Beagle	2
Caniche	2
Basset Hound	1
Boxer	1
Braco Alemão	1
Bull Terrier	1
Cão D'Água Português	1
Cocker Spaniel	1
Fox Terrier	1
Golden Retriever	1
Jack Russel	1
Pequinois	1
Shitzu	1
Teckel	1
West Highland White Terrier	1
Yorkshire Terrier	1
Serra da Estrela	1
Total	63
SRD – Sem Raça Definida	

De entre os 63 cães, 54% (34/63) eram machos e 46% (29/63) fêmeas, como se pode observar na figura 16-A. No que respeita aos machos, 37% (23/34) eram machos inteiros (MI) e 17% (11/34) eram machos castrados (MC). Relativamente às fêmeas, dos 46%, 16% (10/29) eram fêmeas inteiras (FI) e 30% (19/29) fêmeas esterilizadas (FE) (figura 16-B).

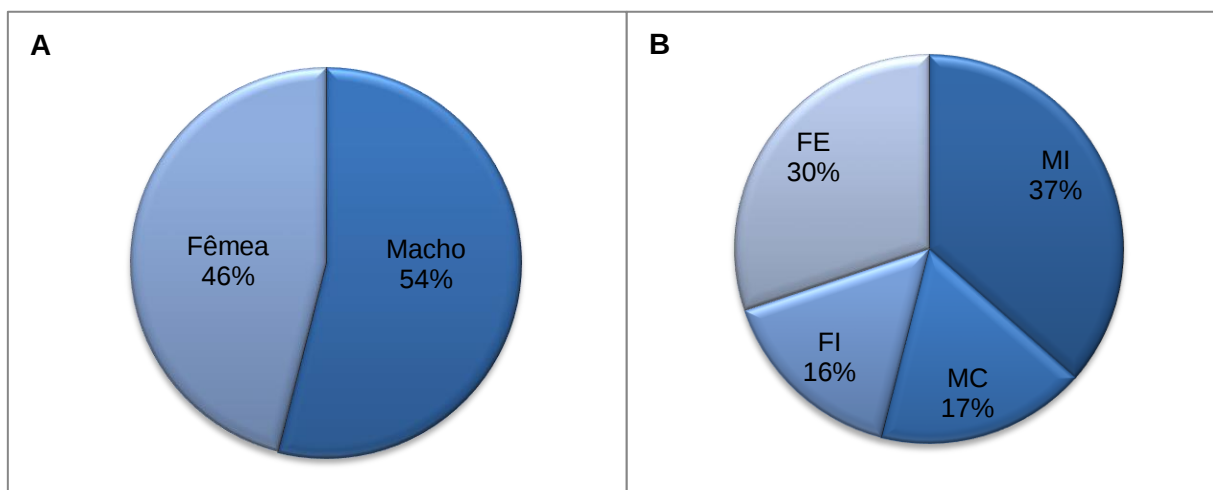


Figura 16: Distribuição das amostras em estudo segundo o Sexo (A) e Estado reprodutivo (B) dos animais das análises citológicas em estudo. FE – Fêmea esterilizada, FI – Fêmea inteira, MC – Macho castrado, MI – Macho inteiro.

Os 63 cães apresentavam idades entre os 3 meses e os 18 anos de idade e foram divididos em três grupos: i) idade inferior ou igual a um ano, ii) idade entre 2 e 7 anos, iii) idade superior ou igual a 8 anos. Como se pode verificar na figura 17, o grupo etário onde se verificou um maior número de análises citológicas foi o grupo com idade superior a 8 anos, sendo a média de idades do total de cães sujeitos a análise citológica de 7,9 anos.

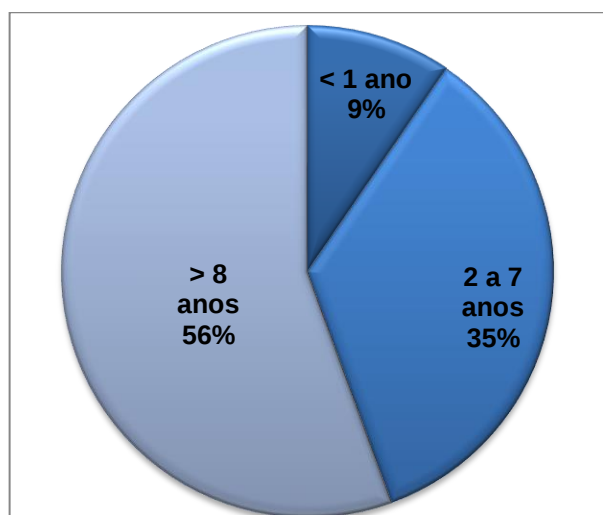


Figura 17: Distribuição das amostras em estudo em função da idade dos animais das análises citológicas em estudo.

As amostras das 119 análises citológicas foram obtidas através das técnicas, punção por agulha fina 75% (89/119), fita-cola 12% (14/119), aposição 6% (7/119), tricograma 4% (5/119) e raspagem profunda 3% (4/119) (tabela 6).

A punção por agulha fina foi a técnica usada para diagnosticar lesões neoplásicas ou com suspeita de neoplasia. Ao utilizar a técnica por aposição foram diagnosticadas, somente, lesões inflamatórias. Com o exame tricograma e pela técnica impressão por fita-cola foram diagnosticadas lesões parasitárias, fúngicas. Nas amostras obtidas por raspagem obtiveram-se amostras sem alterações.

Tabela 6: Técnicas de colheita de amostras e a sua relação com os resultados obtidos.

Técnica de Colheita de Amostras	Nº de Resultados Conclusivos	Nº de Resultados Inconclusivos	Total
Punção por Agulha Fina	68	21	89
Fita-cola	13	1	14
Aposição	7	0	7
Tricograma	5	0	5
Raspagem Profunda	4	0	4
Total	97	22	119

De entre as 119 análises citológicas, 13% (15/119) apresentavam-se sem alterações observadas, 18% (22/119) foram inconclusivas, não permitindo elaborar um diagnóstico, e 82% (97/119) permitiram chegar a resultados conclusivos (figura 18). Os resultados inconclusivos deveram-se a obtenção de amostras de fraca celularidade e por contaminação sanguínea. Os resultados conclusivos na punção aspirativa por agulha fina foram de 76% (68/89). Na técnica de fita-cola obtiveram-se 92% (13/14) de resultados conclusivos. Nas restantes técnicas utilizadas, técnica por aposição, tricograma e raspagem profunda foram obtidos 100% de resultados conclusivos (tabela 6).

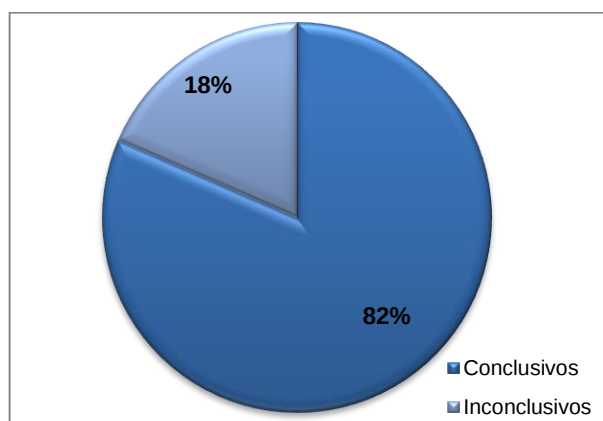


Figura 18: Distribuição das amostras em estudo, segundo o tipo de resultados obtidos: resultados conclusivos e inconclusivos.

As lesões com resultados conclusivos foram divididas em neoplásicas (50/119) e não neoplásicas (32/119), conforme se pode observar na figura 19.

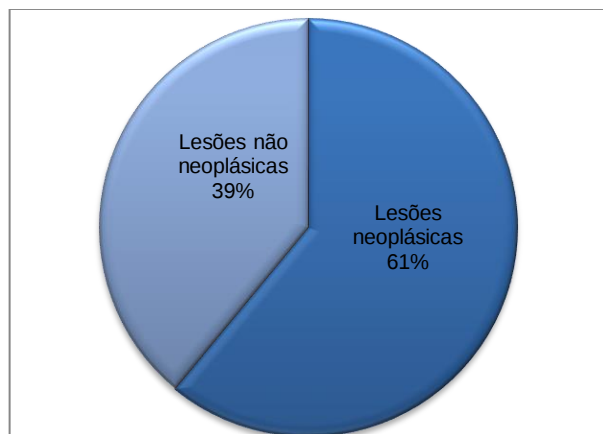


Figura 19: Distribuição dos resultados conclusivos em lesões neoplásicas e não neoplásicas.

De entre as 32 lesões não neoplásicas, 59% (19/32) dos resultados pertencem a animais com lesões inflamatórias e 41% (13/32) não inflamatórias (figura 20).

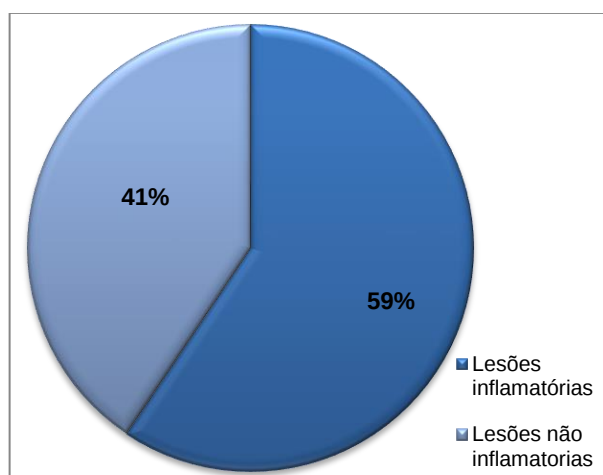


Figura 20: Distribuição das lesões não neoplásicas relativamente ao seu estado inflamatório.

As lesões inflamatórias observadas foram processo inflamatório supurativo séptico, processo inflamatório supurativo, processo inflamatório piogranulomatoso, sendo que a lesão inflamatória mais frequente foi o processo inflamatório supurativo séptico (5,9 %, 7/119). As lesões parasitárias presentes nas análises citológicas incluíram a presença de *Demodex canis* (5%, 6/119), sendo este o parasita mais frequentemente encontrado nas citologias de pele, seguido de granuloma por *Leishmania spp.* (0,8%, 1/119). A dermatite por *Malassezia spp.* foi a única lesão fúngica encontrada. A lesão não inflamatória mais frequente foi o quisto epidermal com 5,9% (7/119).

Em duas análises citológicas, pertencentes a dois animais com lesões inflamatórias (processo inflamatório supurativo e processo supurativo séptico) observou-se a presença de microfilárias provenientes de contaminação sanguínea (figura 21).

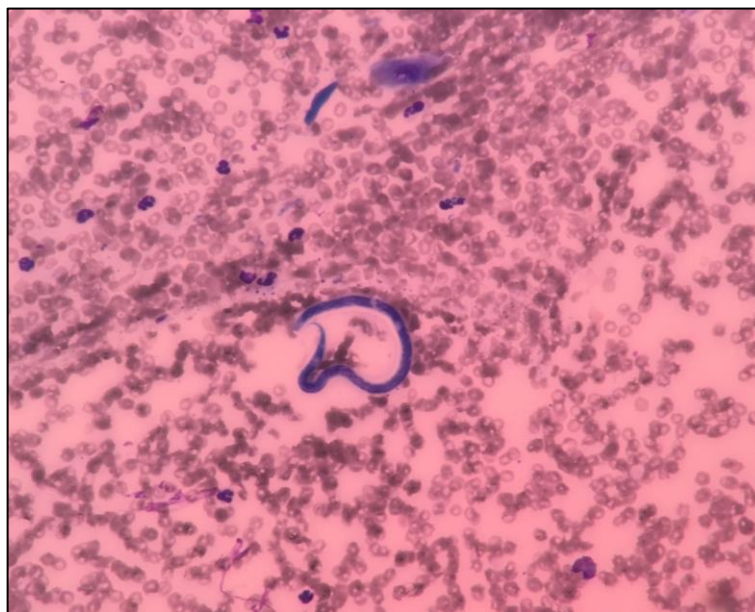


Figura 21: Processo inflamatório supurativo séptico e contaminação sanguínea com microfilárias (x400). Original da autora.

As lesões diagnosticadas com maior frequência foram o lipoma ou aspiração de gordura tecidual em 17% (20/119) das lesões (figura 22), neoplasia de células redondas compatível com mastocitoma em 15% (18/119) (figura 23), processo inflamatório supurativo séptico (figura 21), quisto epidermal (figura 24), ambos com 6% (7/119) das lesões, e presença de *Demodex canis* (figura 25) em 5% (6/119) do total de lesões observadas.

Das 18 análises citológicas em que o diagnóstico citológico foi neoplasia de células redondas, compatível com mastocitoma, 5 eram mastocitomas, aparentemente de alto grau (correspondente a grau histológico II de Patnaik) e as restantes, treze eram de mastocitomas, aparentemente de baixo grau (correspondente a grau histológico I de Patnaik). Destas 18 lesões, só nove foram sujeitas a análise histopatológica após remoção cirúrgica, sendo que só duas não foram compatíveis relativamente ao grau. O resultado citológicos destas duas lesões foi mastocitoma, aparentemente de baixo grau e o resultado histopatológico, para ambos, foi de mastocitoma subcutâneo.

Os resultados das análises citológicas encontram-se descritos na tabela 7.

Tabela 7: Resultados das análises citológicas.

Resultado da Análise Citológica	Frequência Absoluta
Adenoma das glândulas perianais	4
Adenoma/ hiperplasia sebácea	3
Carcinoma de células escamosas	1
<i>Demodex canis</i>	6
Granulomas por <i>Leishmania spp.</i>	1
Hematoma, um hemangioma ou outras lesões hemorrágicas	4
Inconclusivo	22
Lesão quística benigna ou quisto benigno	2
Lipoma ou aspiração de gordura tecidual	20
<i>Malassezia spp.</i>	1
Neoplasia de células redondas compatível com histiocitoma	1
Neoplasia de células redondas compatível com mastocitoma	18
Neoplasia mesenquimatosa maligna compatível com tumor da parede perivascular	3
Processo inflamatório piogranulomatoso	1
Processo inflamatório supurativo séptico	7
Processo inflamatório supurativo.	3
Quisto epidermal ou um tumor benigno do folículo piloso	7
Sem alterações	15
Total	119

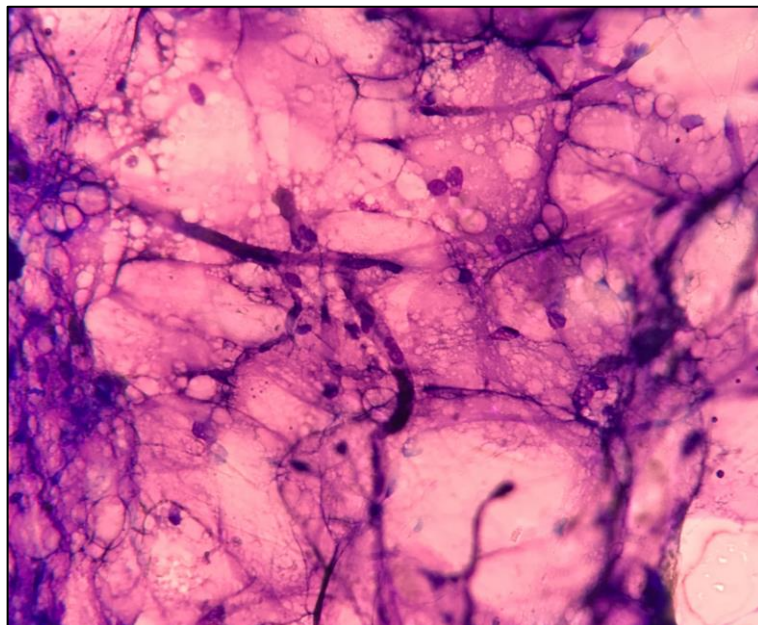


Figura 22: Lipoma (x1000). Original da autora.

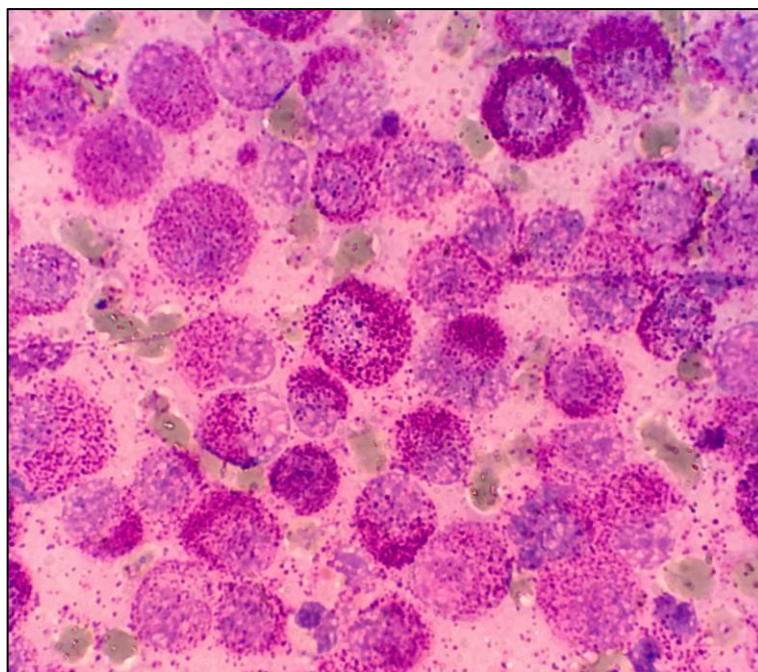


Figura 23: Mastocitoma, aparentemente, de baixo grau (x400). Original da autora.

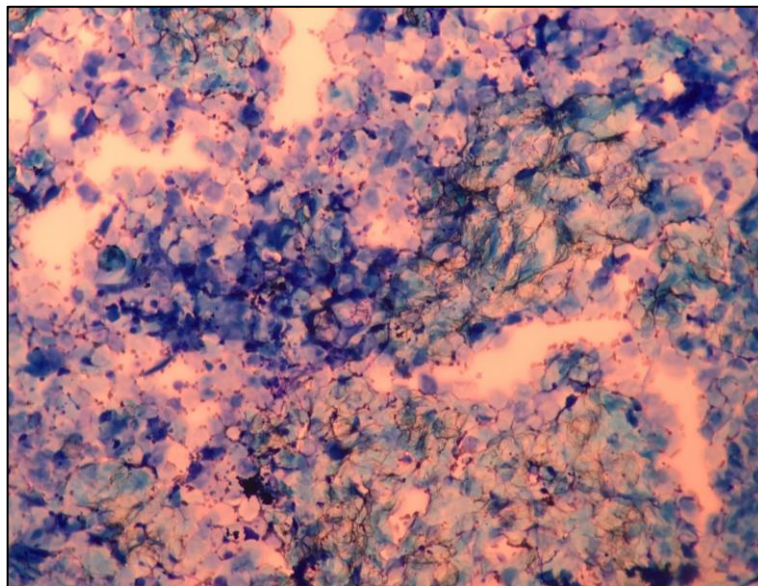


Figura 24: Quisto epidermal (x100). Original da autora.

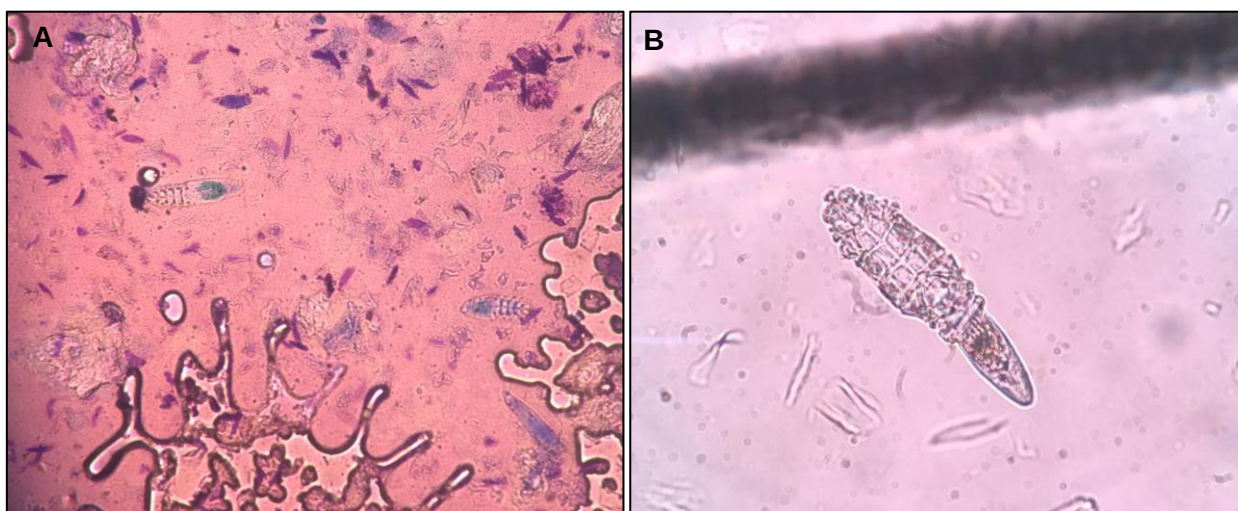


Figura 25: Presença de *Demodex spp.*. A) Técnica de colheita de amostras: Fita-cola. (x400). B) Técnica de colheita de amostras: Tricograma (x1000). Original da autora.

4 Discussão

O presente trabalho teve com principal objetivo avaliar a utilidade de uma técnica de acessível e não invasiva, como a análise citológica, no diagnóstico de lesões cutâneas e/ou subcutâneas mais frequentes no cão.

De entre as 119 análises citológicas realizadas, 18% (22/119) apresentaram resultados inconclusivos (figura 18), não permitindo, assim, elaborar um diagnóstico. Relativamente, às técnicas de colheita de amostras, 75% (89/119) das amostras foram obtidas pela técnica punção por agulha fina e as restantes 25% pelas técnicas de fita-cola, aposição, raspagem profunda, tricograma (tabela 6). Através da punção por agulha fina 76% dos resultados foram conclusivos e 24% inconclusivos (tabela 6).

Uma das grandes limitações da análise citológica é a obtenção de amostras com fraca celularidade, o que inviabiliza a obtenção de um diagnóstico. Os resultados inconclusivos obtidos neste estudo são semelhantes aos descritos por outros autores. Num estudo que correlaciona análises citológicas e histopatológicas, Ghisleni (2006), descreve uma percentagem de 16,8 % de resultados inconclusivos, num total 292 análises citológicas provenientes de lesões cutâneas e subcutâneas de cães e gatos, colhidas pela técnica punção aspirativa por agulha fina. Simeonov (2010), num estudo com 300 análises citológicas de lesões cutâneas e subcutâneas de cães obtidas por PAAF, obteve uma percentagem de 17,3% de resultados inconclusivos.

Amostras de fraca celularidade são características de algumas técnicas de colheita de amostras de lesões cutâneas como a PNAAF e aposição (Cian, 2014). Esta limitação poderá ser parcialmente resolvida através da triagem de amostras quanto à celularidade, embora alguns tipos de lesões, como os tumores mesenquimatosos, esfoliem mal. No entanto, deve-se salientar que, em amostras citológicas, o número mínimo de células necessárias para definir um espécime como adequado é variável e influenciado pela natureza intrínseca da lesão e pela habilidade do citopatologista. Quando se obtêm várias lâminas, todas devem ser coradas e avaliadas porque, muitas vezes, apenas uma delas pode ser suficientemente celular para se obter um diagnóstico (Ghisleni, 2006).

Outra das razões para os resultados inconclusivos foi a contaminação sanguínea presente nas amostras, facto comum na técnica PAAF. Sempre que o citopatologista se depare com este tipos de situações, deve indicar que seja realizada nova colheita, de forma a resolver estas limitações da técnica citológica (Cian, 2014).

Um resultado conclusivo depende de vários fatores, principalmente, a seleção da técnica de colheita mais adequada e a sua correta execução, a obtenção de uma amostra representativa e a sua preparação e coloração adequada (Cian, 2014).

No presente trabalho, das lesões com resultados conclusivos, 61% foram lesões neoplásicas e 39% lesões não neoplásicas (figura 19). Estes resultados diagnósticos permitem aos clínicos uma atuação rápida e mais adequada, particularmente importante em lesões neoplásicas, sendo essenciais, uma vez que as neoplasias de pele são responsáveis por, aproximadamente, 30% de todas as neoplasias de cães (Fisher, 2014). Segundo Bronden e colaboradores (2010), num estudo realizado na Dinamarca, com 1768 cães com tumores cutâneos, subcutâneos e anexos, 43% (765/1768) dos casos foram confirmados por citologia e histopatologia, tendo a citologia sido utilizada no diagnóstico de 54% dos tumores cutâneos. Num estudo com 300 análises citológicas, Simeonov (2010), relata que 193 foram diagnosticadas por citologia como lesões neoplásicas; após confirmação por histopatologia, os autores obtiveram uma concordância de 98,44%.

Ao diagnosticar uma lesão neoplásica por citologia é possível programar o tratamento cirúrgico de forma atempada, permitindo, assim, um melhor prognóstico ao paciente. Por exemplo, relativamente ao histiocitoma, como o seu prognóstico em animais de idade jovem é excelente, estes podem regredir espontaneamente e só em algumas situações poderá ser recomendável excisão cirúrgica (Marcos et al., 2011). Segundo Marcos e colaboradores (2011), há uma inegável vantagem para o cirurgião, em saber que tipo de neoplasia irá extirpar. no caso dos mastocitomas, cuja remoção cirúrgica deve ser feita com amplas margens, atendendo à elevada capacidade de infiltração das células tumorais. Se a neoplasia é desconhecida e a excisão for realizada sem margens amplas, a recidiva é muito provável. Há, ainda, outras neoplasias que devem ser reduzidas por quimioterapia previamente à excisão, o que confirma os benefícios do diagnóstico precoce e prévio à cirurgia (Marcos et al., 2011).

As lesões neoplásicas foram obtidas através da colheita por punção por agulha fina, não tendo sido fornecidos dados sobre qual das técnicas foi usada em cada uma das situações (PNAAF ou PAAF). A punção aspirativa por agulha fina é um procedimento clínico rápido e de baixo custo que requer equipamento muito simples para a sua realização. Devido a estas razões a PAAF deve ser vista como uma técnica aplicável no diagnóstico de várias lesões neoplásica e não neoplásicas (Ghisleni et al., 2006).

As neoplasias mais frequentemente diagnosticadas nas 50 amostras neoplásicas obtidas neste estudo, foram o lipoma com 40% (20/50) e a neoplasia de células redondas compatível com mastocitoma em 36% (18/50) das lesões neoplásicas (tabela 7). Estes dados são semelhantes a outros estudos que descrevem estas neoplasias como as mais diagnosticadas no cão. Num estudo realizado na Suíça, foram avaliadas amostras de 11740 tumores cutâneos de cães tendo as neoplasias cutâneas mais comuns sido mastocitomas, com 16,4%, e lipomas com 12,5% (Graf et al., 2018). Noutro estudo, realizado por Villamil e

colaboradores (2011), nos Estados Unidos da América, foram diagnosticados 25996 cães com neoplasias cutâneas, sendo as mais comuns o lipoma (27,4%), adenoma (14,1%) e mastocitomas (11%). A diferença entre as percentagens, relativamente ao lipomas pode ser justificado, porque citologicamente não é possível distinguir lipoma de aspiração de gordura, ou seja, algumas análises citológicas do estudo, podem ser somente aspiração de gordura que se encontrava em redor da lesão. O lipoma é um tumor benigno com origem nos adipócitos e é muito comum nos cães, particularmente nos obesos (Marcos *et al.*, 2011). É importante realçar que os adipócitos que constituem os lipomas não podem ser diferenciados das células que compõem a gordura subcutânea. Assim sendo, quando são realizados aspirados para colher material de massas subcutâneas é essencial evitar ao máximo aspirar as zonas adjacentes à massa, de modo a evitar contaminação (Fisher, 2014). Os mastocitomas podem ser considerados dos tumores mais facilmente diagnosticáveis através de métodos citológicos devido à boa coloração que os seus grânulos adquirem, aquando da coloração (Fisher, 2014). Os mastocitomas diagnosticados por citologia, foram classificados como mastocitomas de baixo grau e de alto grau. Num estudo em cães, Cammus e colaboradores (2016) obtiveram uma concordância de 73,6% (95/129) em tumores de baixo grau e 81,8% (18/22) para tumores de alto grau. No presente estudo, dos 18 mastocitomas diagnosticados citologicamente, nove foram sujeitos a análise histopatológica após remoção cirúrgica, sendo que destes só dois não foram compatíveis relativamente ao grau. Estes pertenciam a dois cães diferentes e tinham como diagnóstico citológico, mastocitoma, aparentemente de baixo grau (correspondente a grau histológico I de Patnaik), sendo o diagnóstico histopatológico para ambos, mastocitoma subcutâneo. Os mastocitomas subcutâneos devem ser considerados como uma entidade distinta dos cutâneos. Nos mastocitomas subcutâneos não são aplicáveis os graus histológicos de Patnaik, e de Kiupel. Num estudo Thompson e colaboradores (2011), indicam que o prognóstico destes mastocitomas é favorável, com apenas 4% (13/306) dos casos a desenvolverem metástases e 8% (24/306) com recorrência local do tumor, mesmo com (171/306 cães) 56% dos casos com margens incompletas.

Das lesões não neoplásicas, a lesão inflamatória observada em maior número foi o processo inflamatório supurativo séptico com 21,9% (7/32), em amostras obtidas pela técnica de aposição. A lesão parasitária mais observada nas análises citológicas foi a presença de *Demodex canis* com 32% (6/32) dos resultados, seguido de granuloma por *Leishmania spp.* com 18,75% (1/19). A lesão fúngica encontrada com 3% (1/32) foi a dermatite por *Malassezia spp.* (tabela 7). Ácaros do género *Demodex spp.* são habitantes normais da pele, encontrando-se 99% dos mesmos no folículo piloso (Fisher, 2014). Este ácaro foi observado em amostras de pele colhidas através da técnica fita-cola e tricograma. Nenhum destes

diagnósticos ocorreu através de amostras obtidas por raspagem profunda, que é um dos métodos indicado e o mais usado para visualização de *Demodex spp* (Mueller & Bettenay, 2017). Segundo Mueller *et al.* (2012), tricogramas negativos devem ser seguidos de raspagens profundas da pele antes de se excluir a demodecose. Os tricogramas positivos em cães saudáveis são raros. O tricograma poderá ser útil em locais onde a raspagem profunda é difícil no cão. A *Malassezia pachydermatis* é a levedura mais comum em amostras de pele, nos pavilhões auriculares e na cavidade oral (Mendelsohn *et al.*, 2006). Esta levedura foi observada em amostras de pele através da técnica fita-cola, com mais de cinco leveduras/campo com uma ampliação de 400x.

A lesão não neoplásica mais frequente foi o quisto epidermal, com 21.9% (7/32) das lesões. Fisher (2014) descreve que os quistos epidérmicos são encontrados em um terço das lesões não neoplásicas não inflamatórias removidas em cães. Ghisleni e colaboradores (2006), relatam que, de 67 análises citológicas de lesões não neoplásicas, 68,7% (46/66) estavam de acordo com o diagnóstico histopatológico, enquanto que em 31,3% (21/66) das mesmas o resultado não foi compatível com o diagnóstico histopatológico; destes 46 diagnósticos citológicos confirmados cinco foram de quistos epidermal (11%).

Em duas análises citológicas, pertencentes a dois animais com lesões inflamatórias observou-se a presença de microfilárias provenientes de contaminação sanguínea (figura 21), estes dois animais apresentavam microfilárias igualmente no esfregaço sanguíneo. Segundo Albanese e colaboradores (2013), num estudo realizado em Itália, 15 de 16 cães com nódulos cutâneos diagnosticados com *Dirofilaria repens*, foram sujeitos a análise citológica confirmando a presença de *D. repens*, estando três deles co-infetados com *Dirofilaria immitis*. Paniculite nodular foi observada em todos os casos, com nódulos contendo uma ou várias seções transversais de nemátodes e microfilárias, apesar de haver dúvidas se os nódulos são causados pela ação mecânica direta dos nematodes ou por inflamação crônica. Adultos e larvas de *D. repens* podem induzir nódulos cutâneos em cães, devendo estas lesões ser cuidadosamente avaliadas em áreas endêmicas; neste caso a citologia por punção com agulha fina mostrou ser útil (Albanese *et al.*, 2013).

Os dados obtidos neste estudo estão de acordo com a bibliografia disponível, confirmando o diagnóstico de lesões cutâneas e subcutâneas mais comuns no cão como o lipoma, mastocitoma, processo inflamatório supurativo séptico, quisto epidermal e demodecose. O método preferencial para a colheita de amostras de lesões cutâneas e subcutâneas foi a punção por agulha fina, tendo sido a técnica utilizada nos referidos estudos.

A percentagem de resultados conclusivos obtidos neste estudo (figura 18) é, também, semelhante aos estudos referidos, reforçando a utilidade da citologia. Ou seja, em 82% (97/119) dos casos a citologia permitiu emitir um diagnóstico ou orientar o Médico

Veterinário a elaborar um plano diagnóstico para chegar ao diagnóstico definitivo. As lesões cutâneas e subcutâneas diagnosticadas pela análise citológica são as lesões mais frequentemente observadas em áreas de especialização como a Oncologia e Dermatologia. Na Oncologia, a rapidez e a facilidade na execução desta técnica quando comparada com a análise histopatológica, é ainda mais importante porque permite elaborar um plano terapêutico precoce, melhorando o prognóstico para o paciente. Algumas neoplasias devem ser reduzidas por quimioterapia antes da excisão cirúrgica, o que confirma os benefícios do diagnóstico precoce prévio à cirurgia. No caso dos mastocitomas, cuja remoção cirúrgica deve ser feita com amplas margens, se a neoplasia é desconhecida e a excisão for realizada sem margens amplas, a recidiva é muito provável (Marcos *et al.*, 2011). Nas consultas de dermatologia é frequente o uso de técnicas de colheita de amostras de pele, como a aposição, a raspagem, a fita-cola e a punção por agulha fina. Estas amostras são analisadas por citologia, permitindo distinguir lesões neoplásicas de não neoplásicas, lesões inflamatórias e identificação de agentes infecciosos (bactérias, parasitas e fungos).

Seria importante incluir no presente estudo um maior número de amostras para análise citológica para, assim, reforçar a confiança na técnica. Em muitas das lesões em que seria possível a remoção cirúrgica para posterior análise histopatológica, esta não foi realizada, o que não permitiu a confirmação do diagnóstico citológico pela histopatologia, podendo assim, obter resultados mais específicos e consequentemente mais fidedignos.

A citologia é um exame complementar que pode e deve estar disponível em todos os centros veterinários, devendo, o Médico Veterinário ter sempre presente a importância de uma adequada seleção da técnica de colheita da amostra e da sua correta execução, de forma a obter uma amostra representativa da lesão.

5 Conclusão

Os resultados obtidos no presente estudo permitiram alcançar os objetivos propostos, mostrando a utilidade da análise citológica no diagnóstico de várias lesões cutâneas e subcutâneas. A citologia permitiu diagnosticar e diferenciar lesões neoplásicas de lesões não neoplásicas, lesões inflamatórias de lesões não inflamatórias, identificar agentes infecciosos como leveduras, ácaros, bactérias e hemoparasitas. Os resultados conclusivos obtidos, possibilitaram o diagnóstico das lesões cutâneas e subcutâneas em cães, que mais frequentemente se observam na clínica de animais de companhia.

O aparecimento de lesões no tecido cutâneo e subcutâneo dos animais de companhia é comum, sendo necessária a existência de métodos complementares com resultados rápidos e fidedignos. Importante no caso de áreas de especialização como a Oncologia e Dermatologia.

Em estudos futuros, seria importante incluir critérios como a especificação do tipo de colheita efetuado, em relação à punção por agulha fina (punção aspirativa, não aspirativa), o método de colheita selecionado, isto é, se esta foi realizada por punção em consulta, intra-cirúrgica ou pós-cirúrgica. Seria, também, interessante incluir em que área da Medicina Veterinária foi realizada a análise. Para validar o diagnóstico citológico o mais importante, seria, a confirmação do diagnóstico citológico através da histopatologia.

A presente dissertação pretendeu dar um contributo na consciencialização dos Médicos Veterinários para as vantagens e desvantagens da análise citológica, abrindo portas a novos estudos e melhorando a assistência dada aos pacientes, particularmente em áreas de especialidade como a Oncologia e Dermatologia. Futuramente, seria interessante realizar estudos semelhantes em gatos, com uma amostra maior e mais abrangente, incluindo técnicas de imunohistoquímica para fenotipagem de células provenientes de análises citológicas e análise histopatológica das lesões sujeitas a análise citológica.

6 Referências Bibliográficas

- Albanese, F. (2017). Morphology and Function of Skin Cells. *In* F. Albanese, *Canine and Feline Skin Cytology* (pp 1-39). Switzerland: Springer.
- Albanese, F. (2017). Techniques of Sampling, Preparation and Staining of Cytological Specimens. *In* F. Albanese, *Canine and Feline Skin Cytology* (pp 41-68). Switzerland: Springer.
- Albanese, F., Abramo, F., Braglia, C., Caporali, C., Venco, L., Vercelli, A., *et al.* (2013). Nodular lesions due to infestation by *Dirofilaria repens* in dogs from Italy. *Veterinary Dermatology*, 24: 255-259.
- Ayele L, Mohammed C, Yimer L (2017) Review on Diagnostic Cytology: Techniques and Applications in Veterinary Medicine. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 8:1-10.
- Barger, A. (2012). Cytology of Neoplasia: An Essential Component of Diagnosis. *Today's Veterinary Practice*, 2(5): 12-18.
- Bayou, K. (2017). Cytodiagnosis of Common Skin Lesions in Dog and Cat: A Review. *Global Veterinarian*, 19(3): 539-548.
- Bronden, L.B., Eriksen, T., Kristensen, A. T. (2010). Mast cell tumors and other skin neoplasia in Danish dogs - data from the Danish Veterinary Cancer Registry. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52:1-6.
- Camus, M. S., Priest, H. L., Koehler, J. W., Driskel, E. A., Rakich, P. M., Ilha, M. R., Krimer, P. M. (2016). Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. *Veterinary Pathology*, 53(6): 1117-1123.
- Cian, F. (2014). Cytology (part 1): sample collection and preparation. *Companion Animal*, 19(8): 401-405.
- Cian, F. (2014). Cytology (part 2): approach to slide examination. *Companion Animal*, 19 (9): 469-472.
- Cian, F. (2014). Cytology (part 4): cutaneous lesions of epithelial and mesenchymal origin. *Companion Animal*, 19(11): 568-572.

- Cowell, R. L., Arndt, T. P. (2014). Selected Infectious Agents. In A. C. Valenciano, R. L. Cowell, *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4ª Ed.). (pp 48-56). St. Louis: Elsevier.
- DeNicola, D. B. (2014). Round Cells. In A. C. Valenciano, R. L. Cowell, *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4ª Ed.). (pp 71-73). St. Louis: Elsevier.
- Dickinson, R. M. (2017). Cytology of the Skin and Subcutaneous Tissues. In S. J. Ettinger, E. C. Feldman, E. Côté, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8ªEd.). (pp 990-1006) St. Louis: Elsevier.
- Fisher, D. J. (2014). Cutaneous and Subcutaneous Lesions. In A. C. Valenciano, R. L. Cowell, *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4ª Ed.). (pp 80-109). St. Louis: Elsevier.
- Garrett, L. D. (2016). Cytologic Diagnosis & Treatment Options: Common Neoplastic Skin Lesions in Dogs & Cats. *Today's Veterinary Practice*, 6(1): 28-35.
- Ghisleni, G., Roccabianca, P., Ceruti, R., Stefanello, D., Bertazzolo, W., Bonfati, U., Cianiatti, M. (2006). Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 35:24-30.
- Graf, R., Pospischil, A., Guscelli, F., Meier, D., Welle, M., Dettwiler, M. (2018). Cutaneous Tumors in Swiss Dogs: Retrospective Data From the Swiss Canine Cancer Registry, 2008–2013. *Veterinary Pathology*, 55(6): 1-12.
- Johnson, M. C., Myers, A. N. (2017). Cytology of Skin Neoplasms. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 47: 85–110.
- MacNeill, A. L. (2011). Cytology of canine and feline cutaneous and subcutaneous lesions and lymph nodes. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26(2): 62-73.
- Marcos R., Santos, M. (2011). Técnicas de Colheita e Coloração de Esfregaços. In M. C. Peleteiro, R. Marcos, M. Santos, J. Correia, H. Pissara, T. Carvalho, *Atlas de Citologia Veterinária* (1ªEd.). (pp. 1-27). Lisboa: Lidel.
- Marcos, R., Santos, M., Pissara, H., Peleteiro, M. C. (2011). Pele, seus anexos e tecido subcutâneo. In M. C. Peleteiro, R. Marcos, M. Santos, J. Correia, H. Pissara, T. Carvalho, *Atlas de Citologia Veterinária* (1ªEd.). (pp. 45-100). Lisboa: Lidel.

- Meinkoth, J. H., Cowell, R. L., Tyler, R. D. (2014). Cell Types and Criteria of Malignancy. *In* A. C. Valenciano, R. L. Cowell, *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*, (4^a ed.). (pp. 20-47). St. Louis: Elsevier.
- Meinkoth, J. H., Cowell, R. L., Tyler, R. D., Morton, R. J (2014). Sample Collection and Preparation. *In* A. C. Valenciano, R. L. Cowell, *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4^a Ed.). (pp 1-19). St. Louis: Elsevier.
- Mendelsohn, C., Rosenkrantz, W., Griffin, C. E. (2006). Practical Cytology For Inflammatory Skin Diseases. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 21: 117-127.
- Mueller, R. S., Bettenay, S. V. (2017). Scraping, Fine-Needle Aspiration, and Biopsy of Skin and Subcutaneous Tissues. *In* S. J. Ettinger, E. C. Feldman, E. Côté, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8^aEd.). (pp 980-989). St. Louis: Elsevier.
- Mueller, R. S., Bensignor, E., Ferrer, L., Holm, B., Lemarie, S., Paradis, M., Shipstone, M. A. (2012). Treatment of demodicosis in dogs: 2011 clinical practice guidelines. *Veterinary Dermatology*, 23: 86-96.
- Peleteiro, M. C. (2011). Princípios Gerais de Interpretação em Diagnóstico Citológico. *In* M. C. Peleteiro, R. Marcos, M. Santos, J. Correia, H. Pissara, T. Carvalho, *Atlas de Citologia Veterinária* (1^aEd.). (pp. 29-42). Lisboa: Lidel.
- Power, H., Préçaud, P. (2011). O papel da raça nas doenças cutâneas caninas. *Veterinary Focus*, 21(3): 10-17.
- Raskin, R. E. (2010). General Categories of Cytologic Interpretation. *In* R. E. Raskin, D. J. Meyer, *Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide*, (2^a ed.). (pp. 15-25). St. Louis: Saunders Elsevier.
- Raskin, R. E. (2010). Skin and Subcutaneous Tissues. *In* R. E. Raskin, D. J. Meyer, *Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide*, (2^a ed.). (pp. 26-74). St. Louis: Saunders Elsevier.
- Sharkey, L. C., Dial, S. M. Matz, M. E. (2007). Maximizing the Diagnostic Value of Cytology in Small Animal Practice. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 37: 351–372.
- Shelly, S. M. (2003). Cutaneous lesions. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 33: 1-46.

- Simeonov, R. S. (2012). The accuracy of fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of canine skin and subcutaneous masses. *Comparative Clinical Pathology*, 21:143–147.
- Stone, B., Reppas, G. (2010). Cytology Sample Collection and Preparation for Veterinary Practitioners. *QML Pathology*, 1:1-8.
- Thompson, J. J., Pearl, D. L., Yager, J. A, Best S. J., Coomber B. L., Foster R. A. (2011). Canine Subcutaneous Mast Cell Tumor: Characterization and Prognostic Indices. *Veterinary Pathology*, 48(1): 156-168.
- Tyler, R.D., Cowell, R. L., Meinkoth J. H. (2007) Cutaneous and Subcutaneous Lesions. In R. L. Cowell, R. D. Tyler, J. H. Meinkoth, D. B. DeNicola, *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (3ª Ed.). (pp 80-109). St. Louis: Mosby Elsevier.
- Vich, C. (2018). Tricograma: Demodicosis. In C. Vich, *Tricograma y citología cutánea: La clave del éxito. Dermatología canina y felina* (1ªEd.). (pp 47-54). Zaragoza: Editorial Amazing Books.
- Villamil, J. A., Henry C. J., Bryan J. N., Ellersieck, M., Schultz, L., Tyler, J W., Hahn, A. W. (2011). Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasms. *JAVMA*, 239(7):960-965.
- Warland, J., Dobson, J. (2011). Tumores cutâneos caninos e felinos. *Veterinary Focus*, 21(3): 34-41.

Anexo I – Requisições de Análises do LACH



Requisição de Análises Clínicas

nº Int. _____/_____

Nome: _____ Idade: _____ Sexo: _____
 Espécie: _____ Raça: _____
 Proprietário: _____
 Data da colheita: _____ Data de envio: _____
 nº de amostras: _____
 Médico responsável: _____
 Entidade/Clinica veterinária: _____

Consulta ☐ Internado ☐ **URGENTE** ☐ Imprimir ☐

Dados clínicos relevantes: _____

Tipo de amostra enviada:

Sangue: ☐ EDTA ☐ Soro ☐ Heparina ☐ Citrato

Urina: Cistocentese ☐ Algáliação ☐ Colheita Livre ☐

Outros: _____

Análises pretendidas:

Hematologia

- ☐ Contagem de reticulócitos
- ☐ Esfregaço
- ☐ Hemograma completo
- ☐ Hemograma exóticos
- ☐ Micro-hematócrito
- ☐ Tipificação

Bioquímica sanguínea

- ☐ Ác. Biliares jejum
- ☐ Ác. Biliares pós prandial
- ☐ Albumina
- ☐ ALT/GPT
- ☐ AST/GOT
- ☐ Bilirrubina total
- ☐ Cálcio total
- ☐ CK
- ☐ Colesterol
- ☐ Cpli
- ☐ Creatinina
- ☐ Fenobarbital Sem gel
- ☐ Ferro
- ☐ Fosfatase alcalina
- ☐ Fósforo
- ☐ Fpli
- ☐ Frutosamina
- ☐ Gama-GT
- ☐ Glucose Tira ☐
- ☐ Ionograma
- ☐ Lactato sangue total
- ☐ Paine V
- ☐ Proteínas totais Refrac ☐
- ☐ Proteinograma

Análises externas:

☐ TLI

☐ Triglicéridos

☐ Ureia

Endocrinologia

- ☐ Cortisol Monitorização ☐
- ☐ Estimul. ACTH Monitorização ☐
- ☐ Progesterona
- ☐ Sup. dexametasona
- ☐ T4 livre ED
- ☐ T4 total Monitorização ☐
- ☐ TSH

Hemostase

- ☐ Perfil de coagulação
- ☐ TP sangue total
- ☐ TTPA sangue total
- ☐ D-Dímeros

Serologia

- ☐ Perfil 1 (Ehrlich, rickett, bab)
- ☐ Perfil 2 (Ehrlich, rickett, bab, leish)
- ☐ Borrelia (ELISA C6)
- ☐ Coronavirus Ac
- ☐ Dirofilaria immitis (Ag)
- ☐ Esgana IgG
- ☐ Esgana IgM
- ☐ FIV (Ac)/FeLV (Ag)
- ☐ Giardia Ag Fezes
- ☐ Leishmania (ELISA)
- ☐ Leptospira
- ☐ Toxoplasma IgG
- ☐ Toxoplasma IgM

Biologia molecular

- ☐ Anaplasma spp
- ☐ Babesia spp
- ☐ Bartonella spp
- ☐ Borrelia burgdorferi caps artic, peric, pele
- ☐ Coronavirus felino efusão
- ☐ Ehrlichia spp baço
- ☐ Esgana Zaragatoa
- ☐ FeLV (qPCR) MO
- ☐ FIV (qPCR)
- ☐ Leishmania MQ, LN, pele
- ☐ Leptospira spp
- ☐ Mycoplasma hemotropicos
- ☐ Toxoplasma Humor aquoso, BAL, LCR

Urianálise

- ☐ Urianálise tipo II
- ☐ Rácio prot/crea
- ☐ Sedimento urinário

Parasitologia

- ☐ Pesq. parasitas Gastrointestinais Fezes
- ☐ Pesq. parasitas pulmonares Fezes

Outras análises/ observações:



Assinatura: _____



Requisição Citologia e Histopatologia

n° Int. _____/____

Nome: _____ Idade: _____ Sexo: _____
 Espécie: _____ Raça: _____
 Proprietário: _____
 Data da colheita: _____ Data de envio: _____
 Médico responsável: _____
 Entidade/Clinica veterinária: _____

 Consulta ☐ Internado ☐ URGENTE ☐

 CITOLOGIA ☐ BIÓPSIA ☐

Amostras enviadas: _____

Tipo de amostra enviada:

 Nódulo/massa ☐ Linfondo ☐ Órgão ☐ Estudo de líquido ☐

 Biópsia: Trucut ☐ Incisional ☐ Peça Cirúrgica ☐ Endoscopia ☐

 Citologia: PAAF ☐ Escova ☐ Aposição ☐ Raspagem ☐ Lavagem ☐
 Efusão ☐ Outros: _____

 Histopatologias/ Citologias anteriores: não ☐ sim ☐

Data: _____ Resultado: _____

História pregressa/ Tratamento instituído/Diagnósticos Diferenciais/descrição da(s) lesão(es):



Assinale na figura o local de colheita das amostras

Localização: _____

Dimensões (cm): _____

 Consistência: branda ☐ média ☐ firme ☐

 Ulceração: não ☐ sim ☐

 Dor à palpação: não ☐ sim ☐

 Temperatura: quente ☐ normal ☐

 Relação tecidos vizinhos: aderente ☐ móvel ☐ fixa ☐

 Disposição: multifocal ☐ focal ☐ difuso ☐

 Prurido: não ☐ sim ☐

Descrição (a ser preenchido pelo citologista/histopatologista):

Assinatura: _____

NOTA: As amostras para análise histopatológica devem ser enviadas em Formalina (Formaldeído diluído numa proporção 1/10).

No caso de biópsias cutâneas, a descrição detalhada é imprescindível para a correta interpretação das observações histológicas. Estas amostras devem ser, preferencialmente, acompanhadas das fotografias das lesões.

No caso de citologias de líquidos/derrames a amostra deve ser colhida para um tubo de EDTA (para outros estudos tubo seco/tubo estéril)

Anexo II – Protocolo de Coloração usado no LACH.



faculdade
de medicina
veterinária



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

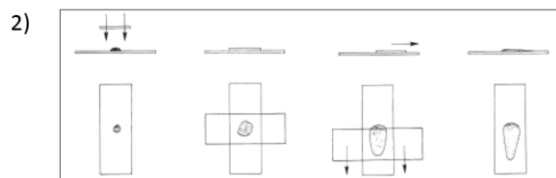
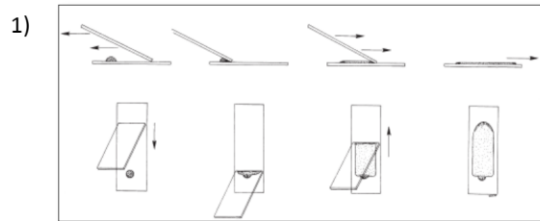
Protocolos LACH

2017

May Grunwald-Giemsa QUICK STAIN

Coloração de esfregaços sanguíneos e citologias

- Preparar a amostra sanguínea ou material citológico através de um esfregaço 1) ou pelo método de *squash* 2)



- Deixar a amostra secar à temperatura ambiente
- Mergulhar 5 vezes na solução A (fixador-metanol)
- Mergulhar 5 vezes na solução B (eosina)
- Mergulhar 5 vezes na solução C (corante tiazínico)
- Lavar em água corrente
- Deixar secar ao ar

NOTA: O envelhecimento dos corantes pode levar à necessidade de aumentar o nº de mergulhos na solução B e C