

## ASPECTOS CITOMORFOLÓGICOS E FREQUÊNCIA DOS SUBTIPOS DO TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO NO MUNICÍPIO DE CAMPO GRANDE, MATO GROSSO DO SUL, BRASIL

[*Cytomorphological aspects and frequency of canine transmissible venereal tumor subtypes in the municipality of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil*]

**Renata Amarilha Valençola<sup>1</sup>, Tamires Ramborger Antunes<sup>2\*</sup>, Simone Sorgatto<sup>3</sup>, Bruna Brito Oliveira<sup>3</sup>, Kelly Cristina da Silva Godoy<sup>4</sup>, Alda Izabel de Souza<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Médica Veterinária Autônoma Especialista em Patologia Clínica Veterinária, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>3</sup>Residente em Patologia Clínica Veterinária pelo Programa Profissional em Saúde em Medicina Veterinária - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>4</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>5</sup>Docente do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – FAMEZ/UFMS, Campo Grande, MS, Brasil.

**RESUMO** – O tumor venéreo transmissível (TVT) é uma neoplasia indiferenciada de células redondas que acomete principalmente cães errantes, cuja atividade sexual não é acompanhada. O diagnóstico é realizado baseando-se nos sinais clínicos e achados citológicos típicos das células esfoliadas. Entretanto, mudanças nas características citomorfológicas têm sido observadas, permitindo-se a subdivisão nas classes linfocitóide, plasmocitóide e misto. Autores relataram diferenças na prevalência dos subtipos de TVT de acordo com as regiões brasileiras, porém esse tipo de informação é desconhecida na região Centro-Oeste. O conhecimento dessas informações torna-se imprescindível para o auxílio no diagnóstico e estabelecimento do tratamento e prognóstico apropriados nos animais de cada município e região. O trabalho teve como objetivo caracterizar citologicamente os casos de TVT canino, diagnosticados em animais atendidos em um hospital escola do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. A partir do diagnóstico de TVT em 70 animais, 88 nódulos neoplásicos foram caracterizados por meio da citopatologia. A subclasse plasmocitóide representou 81,8% dos casos. A extensa lista de critérios de malignidade, tanto nucleares quanto citoplasmáticos, caracterizaram como malignas todas as amostras estudadas. A presença de mastócitos (32,7%) destacou-se no infiltrado inflamatório dos nódulos. O padrão observado assemelhou-se aos de outras regiões brasileiras, contudo, as circunstâncias para a frequente presença de mastócitos merecem maiores investigações.

**Palavras-Chave:** citologia; classificação; mastócitos; malignidade.

**ABSTRACT** – The transmissible venereal tumor (TVT) is an undifferentiated round cell tumor that mainly affects stray dogs, whose sexual activity is not monitored. The diagnosis is made based on clinical signs and typical cytological findings of exfoliated cells. However, changes in cytomorphologic characteristics have been observed, allowing the subdivision in lymphocytoid, plasmacytoid and mixed classes. Authors reported differences in the prevalence of TVT subtypes according to the Brazilian regions, however such information is unknown in the region center-west. The knowledge of this information becomes indispensable to aid in the diagnosis and establishment of appropriate treatment and prognosis in animals of each municipality and region. The goal of this paper was to characterize cytologically canine TVT cases, diagnosed in animals of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. From the diagnosis of TVT in 70 animals, 88 neoplastic nodules were characterized by cytopathology. The plasmacytoid subclass represented 81.8% of cases. The extensive list of malignancy criteria, both nuclear as cytoplasmic, characterized as malignant all samples. The presence of mast cells (32.7%) stood out in the inflammatory infiltrate of the nodules. The pattern observed was similar to other brazilian regions, however, circumstances for frequent presence of mast cells deserves further investigations.

**Keywords:** cytology; classification; mast cells; malignancy.

---

\* Autor para correspondência. E-mail: tamires\_ramborger\_antunes@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

O tumor venéreo transmissível (TVT) é uma neoplasia indiferenciada de células redondas, exclusiva de canídeos, com provável origem reticuloendotelial. Possui normalmente comportamento biológico benigno, porém pode apresentar características de malignidade. Acomete principalmente animais errantes, cuja atividade sexual não é acompanhada (Romero et al., 2014). O TVT é endêmico em, no mínimo 90 países, com prevalência aproximada de 10% na América do Sul, América Central, África e Ásia (Strakova & Murchison, 2014).

A transmissão ocorre pelo mecanismo de transplantação de células tumorais, por via venérea, lambeduras e ou mordeduras, especialmente se existem abrasões ou perda de integridade da superfície. A genitália é o local mais frequentemente acometido, todavia, a neoplasia pode invadir outros tecidos, tanto por metástase quanto por transplantação, como pele, mucosa oral, mucosa nasal, globo ocular, regiões anal e perianal, órgãos da cavidade abdominal, cérebro e linfonodos regionais (Filgueira et al., 2013; Romero et al., 2014).

O diagnóstico é realizado baseando-se nos sinais clínicos e achados citológicos típicos das células esfoliadas, entretanto, desde 1977 mudanças nas características citomorfológicas têm sido observadas (Mohanty & Rajya, 1977) e atribuídas a diferentes linhagens celulares (Bassani-Silva et al., 2003; Murgia et al., 2006). Essas distinções permitiram a divisão em três subclasses: linfocitóide, plasmocitóide e misto, que podem determinar alterações no comportamento biológico da neoplasia (Amaral et al., 2004).

O subtipo plasmocitóide demonstra ser mais agressivo além de apresentar resistência à atividade antitumoral dos quimioterápicos, baixa taxa de remissão e maior risco de metástase, quando comparado aos subtipos linfocitóide ou misto (Amaral, 2005; Gaspar et al., 2009).

Autores relataram diferenças na prevalência dos subtipos de TVT de acordo com as regiões brasileiras. O subtipo plasmocitóide é mais predominante na região Sudeste quando comparado a região Sul (Amaral et al., 2004; Amaral et al., 2007), porém esses dados ainda são desconhecidos na região Centro-Oeste. Por isso, o conhecimento dessas informações torna-se imprescindível para o auxílio no diagnóstico e estabelecimento do tratamento e prognóstico apropriados nos animais de cada município e região do território nacional.

O estudo objetivou caracterizar citologicamente os casos de TVT diagnosticados em animais atendidos em um hospital-escola no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul (MS), Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para elaboração do trabalho foram utilizados 70 animais com diagnóstico citopatológico de TVT, atendidos entre abril de 2013 e setembro de 2014, provenientes do município de Campo Grande, MS, Brasil. As informações referentes a sexo, padrão racial, idade e hábitos de criação foram obtidas a partir dos prontuários do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FAMEZ – UFMS). O tempo de evolução foi estimado pela data de início da apresentação dos sinais clínicos até o momento do diagnóstico, como estipulado por Amaral (2005), classificando-se em: recentes – com até três semanas de evolução; estabelecidos – com três a oito semanas de evolução e antigos – com mais de oito semanas de desenvolvimento. Cada massa tumoral foi considerada como uma unidade experimental e classificada de acordo com sua localização em: genital ou extragenital.

As amostras foram colhidas por citologia aspirativa com agulha fina ou esfoliação da lesão, segundo método descrito por Cowell et al. (2009). Nos casos com múltiplas massas procurou-se obter material de várias localizações, o que totalizou 88 amostras. As lâminas foram fixadas em metanol e coradas por corante rápido (Diff-Quick).

De acordo com o tipo celular predominante os tumores foram classificados em plasmocitóide, linfocitóide ou misto, segundo protocolo de análise de Amaral et al. (2007). As lâminas foram analisadas em toda a extensão, com objetiva de 40X, para observação da presença de critérios celulares de malignidade e de infiltrado inflamatório. Em amostras hemodiluídas e com bactérias, os infiltrados inflamatórios não foram considerados.

Os resultados das análises citológicas foram apresentados por meio de estatística descritiva.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total dos 70 pacientes com diagnóstico de TVT, 64,3% (45/70) eram fêmeas, 35,7% (25/70) machos, sendo que 75,7% (53/70) não apresentaram definição racial. Em relação à idade, 41,4% (29/70) dos animais tinham de dois a quatro anos e um animal foi enquadrado como filhote (no qual a neoplasia era restrita à área extragenital). Diferente do observado por outros autores, 25,7% (18/70) dos

cães possuíam idade superior a sete anos, no momento da consulta (Silva et al., 2007). O livre acesso à rua foi frequente, representado por 62,9% (44/70) dos cães. A maioria dos animais – 67,1% (47/70) – não eram castrados. Embora estudos epidemiológicos não demonstrem predisposição de gênero, a maturidade sexual tem sido apontada como tendência para o TVT (Silva et al., 2007; Strakova & Murchison, 2014), conforme o que se verificou na pesquisa em discussão.

A inépcia dos proprietários em descrever, precisamente, o tempo de progressão da doença inviabilizou os dados em 19 animais do estudo. Dos resultados obtidos, 34,3% (24/70), 22,9% (16/70) e 15,7% (11/70) dos casos de TVT foram classificados como antigos, recentes e estabelecidos, respectivamente, porém com comprometimento de uma segura conclusão para esses resultados.

A presença de massa em localização genital foi identificada em 68,2% (60/88) dos animais. Nódulos extragenitais corresponderam a 31,8% (28/88) dos diagnósticos e foram identificados em pele ou tecido subcutâneo (26,1%), conjuntiva ocular (2,3%), cavidade oral (2,3%) e região perianal (1,1%). A associação de nódulos genitais e extragenitais (14,3%) e massas extragenitais com inexistência de envolvimento da genitália externa (14,3%), também foram observadas. Implante de células neoplásicas em sítios não relacionados aos órgãos reprodutivos externos são atribuídos ao hábito sociável dos cães, autoimplante de massa genital pré-existente (Filgueira et al., 2013) ou metástase (Park et al., 2006). Similar a um dos pacientes do estudo em questão, a presença de TVT restrito a área extragenital em canino pediátrico já foi relatada por outros autores (Marcos et al., 2006; Varela et al., 2013; Rocha et al., 2014). Tal achado pode ser atribuído à interação social com a mãe portadora para a neoplasia, promovendo a inoculação de células tumorais a partir de microlesões presentes na pele do filhote.

A avaliação citológica é reconhecida como método de diagnóstico para o TVT, com índices que superam 90% de eficiência (Brandão et al., 2002). Por meio dessa técnica é possível classificar os nódulos neoplásicos em três categorias (linfocitóide, plasmocitóide e misto) de acordo com a frequência observada dos dois tipos celulares morfológicamente distintos (Amaral et al., 2007; Flórez et al., 2012). Autores destacaram a possibilidade de diferentes prevalências dessas subclasses de acordo com a região onde o estudo foi realizado (Amaral et al., 2004; Amaral et al., 2007). No presente trabalho, o padrão citomorfológico plasmocitóide representou 81,8% (72/88) dos nódulos analisados, seguido pelo misto,

em 11,4% (10/88) e linfocitóide, em 6,8% (06/88). Os resultados obtidos foram semelhantes aos dados de Amaral et al. (2004), que investigaram cães da região Sudeste do Brasil.

A variação morfológica do TVT é reconhecida como responsável por mudanças no comportamento biológico do tumor (Bassani-Silva et al., 2003). Simermann (2009) afirma que tumores da subclasse plasmocitóide podem apresentar resistência à quimioterapia e prolongamento do tempo de tratamento, o que reforçou a importância do conhecimento das características desse subtipo da neoplasia para a região geográfica analisada.

A observação da variação nas características celulares pode auxiliar na estimativa do potencial maligno de uma neoplasia (Grandi et al., 2014). A presença de três ou mais critérios de malignidade é considerada significativa na definição dos diagnósticos (Cowell et al., 2009). Variações nas características citoplasmáticas e nucleares indicam diferenciação funcional e o nível de atividade celular, respectivamente. Denicola & Reagan (1998) consideraram as alterações nucleares mais importantes que as citoplasmáticas.

A lista dos critérios de malignidade identificados, nas diferentes classificações de TVT, das 88 amostras estudadas, foi apresentada na tabela 1. Observou-se uma extensa lista de critérios de malignidade, tanto nucleares quanto citoplasmáticos que caracterizariam como malignas todas as amostras estudadas. Contudo é importante cautela uma vez que, por meio da avaliação citológica, não é possível detectar invasão de tecidos adjacentes ou disseminação da neoplasia para outros órgãos (Cowell et al., 2009).

A presença e variação do tipo de infiltrado inflamatório no TVT foram relacionados à evolução do tumor, resposta do hospedeiro e produção de fatores quimiotáticos pela neoplasia (Hill et al., 1984; Tinucci-Costa, 1999; Liao et al., 2003). Devido à hemodiluição ou existência de bactérias, das 88 amostras estudadas, o infiltrado inflamatório foi considerado em, apenas, 44,3% (49/88) delas. Dessas, 100% apresentaram linfócitos e plasmócitos. A presença deste tipo de infiltrado foi semelhante ao observado em histiocitoma durante a fase de regressão (Knoll & Simoni, 2008) e assim sugeriu-se que poderia ser um indicador de melhor prognóstico, baseado em descrições de outros trabalhos (Hsiao et al., 2002; Liao et al., 2003; Stockmann et al., 2011). Destaca-se também a presença de mastócitos em 32,7% (16/49) das amostras, raramente observados em nódulos de TVT por outros autores (Mukaratirwa et al., 2006). A apuração da presença dessas células merece investigação para esclarecimentos, uma vez que

pode ser responsável por variações no comportamento da neoplasia.

Tabela 1. Relação dos critérios de malignidade observados nas 88 amostras de tumor venéreo transmissível, distribuídos de acordo com as classificações em plasmocitóide, linfocitóide e misto.

Nucleares	CARACTERIZAÇÃO CITOPATOLÓGICA							
	Plasmocitóide (n=72)		Linfocitóide (n=06)		Misto (n=10)		Total (n=88)	
		%		%		%		%
Mitoses anormais	62	86,1	05	83,3	10	100,0	77	87,5
Mitoses normais	56	77,8	05	83,3	10	100,0	71	80,7
Binucleação	52	72,2	02	33,3	06	60,0	60	68,2
Macrocariose	45	62,5	01	16,7	10	100,0	56	63,6
Brotamentos	46	63,9	04	66,7	05	50,0	55	62,5
Espículas nucleares	37	51,4	04	66,7	09	90,0	50	56,8
Núcleo riniforme	37	51,4	04	66,7	05	50,0	46	52,3
Anisocariose discreta	38	52,8	03	50,0	03	30,0	44	50,0
Cromatina Grosseira	37	51,4	02	33,3	03	30,0	42	47,7
Pseudoinclusões	31	43,1	02	33,3	01	10,0	34	38,6
Hipercromia	19	26,4	00	0,0	01	10,0	20	22,7
Arranjo polar	15	20,8	01	16,7	02	20,0	18	20,5
Nucléolos múltiplos	15	20,8	01	16,7	01	10,0	17	19,3
Multinucleação	09	12,5	00	0,0	02	20,0	11	12,5
Micronucleação	06	8,3	00	0,0	03	30,0	09	10,2
Lobulação nuclear	04	5,6	00	0,0	03	30,0	07	8,0
Ranhura nuclear	05	6,9	00	0,0	00	0,0	05	5,7
Amoldamento nuclear	02	2,8	01	16,7	00	0,0	03	3,4
Anisocariose intensa	02	2,8	00	0,0	00	0,0	02	2,3

  

Citoplasmáticos	(n=72)		(n=06)		(n=10)		(n=88)	
		%		%		%		%
Células vacuolizadas	72	100,0	06	100,0	10	100,0	88	100,0
Corpúsculos linfoglandulares	63	87,5	04	66,7	07	70,0	74	84,1
Projeções citoplasmáticas	55	76,4	03	50,0	10	100	68	77,3
Basofilia citoplasmática	47	65,3	00	0,0	04	40,0	51	57,9
Espessamento de membrana citoplasmática	47	65,3	00	0,0	02	20,0	49	55,7
Células em girino	41	56,9	02	33,3	05	50,0	48	54,5
Células nuas	38	52,8	04	66,7	04	40,0	46	52,3
Anisocitose discreta	36	50,0	03	50,0	00	0,0	39	44,3
Células em fuso	31	43,1	01	16,7	03	30,0	35	39,8
Eosinofilia citoplasmática	07	9,7	01	16,7	01	10,0	09	10,2
Fagocitose	07	9,7	00	0,0	00	0,0	07	8,0
Canibalismo	04	5,6	00	0,0	00	0,0	04	4,5

Agentes infecciosos foram detectados em 22,7% (20/88) dos nódulos. Entre eles, bactérias de morfologia mista (17%), estruturas filamentosas na forma de espiroquetas (2,3%) e formas amastigotas de *Leishmania sp.* (2,3%). Autores alertam para a possibilidade de uma via alternativa de transmissão de *Leishmania sp.* em áreas endêmicas com altos índices de TVT (Marino et al., 2012; Carreira et al., 2014).

### CONCLUSÕES

Os dados apresentados sugerem semelhanças da distribuição dos subtipos citomorfológicos de TVT com o observado em outras regiões brasileiras. No

entanto, a presença de mastócitos, detectados nos infiltrados inflamatórios nos nódulos neoplásicos, alertam para a investigação das circunstâncias desse achado.

### REFERÊNCIAS

Amaral, A.S. et al. Diagnóstico citológico do tumor venéreo transmissível na região de Botucatu, Brasil (estudo descritivo: 1994-2003). *Rev. Port. Ciênc. Vet.*, v.99, p.167-171, 2004.

Amaral, A.S. *Transmissible venereal tumor: cytological criteria of malignancy, and cytomorphological characterization correlated with DNA damage and immunocytochemistry*. 2005. 228f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

- Amaral, A.S. et al. Cytomorphological characterization of transmissible canine venereal tumor. *Rev. Port. Ciênc. Vet.*, v.102, p.253-260, 2007.
- Bassani-Silva, S. et al. Tumor venéreo transmissível - revisão. *Revista Pet & Food & Health & Care*, v.2, p.77-82, 2003.
- Brandão, C.V.S. et al. Tumor venéreo transmissível: estudo retrospectivo de 127 casos (1998 - 2000). *Rev. Educ. Contin. Vet. Med. Zootec.*, v.5, p.25-31, 2002.
- Carreira, V.S. et al. *Leishmania sp. amastigotes identification in canine transmissible venereal tumor*. Case Reports in Veterinary Medicine, 2014. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/crivem/2014/603852/>> Acesso em: 26 jan. 2015. doi. 10.1155/2014/603852.
- Cowell, R.L. et al. *Diagnóstico Citológico e Hematologia de Cães e Gatos*. São Paulo: Medvet, 2009. 476p.
- Denicola, D.; Reagan, W.J. Using cytology in the diagnosis of cancer. In: MORRISON, W.B. *Cancer in dogs and cats: medical and surgical management*. Baltimore : Williams & Wilkins, 1998. p.79-94.
- Filgueira, K.D. et al. Tumor venéreo transmissível canino com múltiplas localizações extragenitais. *Acta Sci. Vet.*, v.41, 2013.
- Flórez, M.M. et al. Cytological subtypes of canine transmissible venereal tumor. *Vet. Clin. Pathol.*, v.41, p.3-5, 2012.
- Gaspar, L.F.J. et al. Imunorreatividade à glicoproteína-p nos diferentes tipos citomorfológicos de tumor venéreo transmissível canino. *Veterinária em foco*, v.6, p.140-146, 2009.
- Grandi, F. et al. *Citopatologia Veterinária Diagnóstica*. São Paulo: Medvet, 2014. 180p.
- Hill, D.L. et al. Canine transmissible venereal sarcoma: tumor cell and infiltrating leukocyte ultrastructure at different growth stages. *Vet. Pathol.*, v.21, p.39-45, 1984.
- Hsiao, Y.W. et al. Effect of tumor infiltrating lymphocytes on the expression of MHC molecules in canine transmissible venereal tumor cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.87, p. 19-27, 2002.
- Knoll, J.S.; Simoni, R.; Clinical Exposures: Canine transmissible venereal tumor: The cytologic clues. *Veterinary Medicine*, 2014. Disponível em: <<http://veterinarymedicine.dvm360.com/clinical-exposures-canine-transmissible-venereal-tumor-cytologic-clues>>. Acesso em: 26 jan. 2015.
- Liao, K.W. et al. Canine transmissible venereal tumor cell depletion of B lymphocytes: molecule(s) specifically toxic for B cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.92, p.149-162, 2003.
- Marcos, R. et al. Cutaneous Transmissible Venereal Tumor without Genital Involvement in a Prepubertal Female Dog. *Vet. Clin. Pathol.*, v.35, p.106-109, 2006.
- Marino, G. et al. Clinicopathological study of canine transmissible venereal tumour in leishmaniotic dogs. *J. Small Anim. Pract.*, v.53, p.323-327, 2012.
- Mohanty, G.C.; Rajya, B.S. Growth and morphological characteristics of canine venereal tumor cells *in vitro*. *Vet. Pathol.*, v. 14, p. 420-425, 1977.
- Mukaratirwa, S. et al. Canine Transmissible Venereal Tumour: Assessment of Mast Cell Numbers as Indicators of the Growth Phase. *Vet. Res. Commun.*, v.30, p.613-621, 2006.
- Murgia, C. et al. Clonal Origin and Evolution of a Transmissible Cancer. *Cell.*, v.126, p.477-487, 2006.
- Park, M.S. et al. Disseminated transmissible venereal tumor in a dog. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.18, p.130-133, 2006.
- Rocha, N.S. et al. Fine Needle Aspiration Cytology in the Diagnosis of Canine Cutaneous Transmissible Venereal Tumor - Case Report. *Open J. Vet. Med.*, v.4, p.204-209, 2014.
- Romero, F. et al. Tumor venéreo transmissível com metástase ovariana em cadela - relato de caso. *Rev. Clín. Vet.*, n.111, p.66-72, 2014.
- Silva, M.C. et al. Avaliação epidemiológica, diagnóstica e terapêutica do tumor venéreo transmissível (TVT) na população canina atendida no Hospital Veterinário da UFRSA. *Act. Vet. Bras.*, v.1, p.28-32, 2007.
- Simermann, N.F.S. *Sulfato de vincristina no tratamento do tumor venéreo transmissível frente à caracterização citomorfológica*. 2009. 46f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- Stockmann, D. et al. Canine Transmissible Venereal Tumors: Aspects Related to Programmed Cell Death. *Braz. J. Vet. Pathol.*, v.4, p. 67-75, 2011.
- Strakova, A.; Murchison, E.P. *The changing global distribution and prevalence of canine transmissible venereal tumour*. BMC Veterinary Research, 2014. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/10/168>. Acesso em: 26 jan. 2015. doi:10.1186/s12917-014-0168-9.
- Tinucci-Costa, M. *Tumor venéreo transmissível canino: estudos imunohistoquímicos e de transplantações xenogênicas e alogênicas*. 1999. 149p. Tese (Doutorado em Medicina) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- Varela, Y.D.M. et al. Transmissible Extragenital Venereal Tumor in Impuberal .Canine. *Braz J Vet Pathol*. v.6, p.123 - 127, 2013.