

HEMATOLOGIA E ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS EM RUMINANTES DOMÉSTICOS

HEMATOLOGY AND HEMATOLOGIC ALTERATIONS IN DOMESTIC RUMINANTS

Stella de Faria Valle¹ e Laura Victoria Quishpe Contreras¹

¹ Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária (FAVET), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.



Autor para correspondência:
stella.valle@ufrgs.br

Revista Brasileira de Buiatria
Exames Complementares,
Volume 4, Número 3, 2021

ISSN 2763-955X

DOI:10.4322/2763-955X.2022.001



Associação Brasileira
de Buiatria

RESUMO

Os exames hematológicos são fundamentais na prática clínica pois, em conjunto com a avaliação clínica dos animais, fornecem subsídios para o diagnóstico, monitoramento e prognóstico de diversas doenças. Em ruminantes domésticos, existem particularidades na hematologia que vão desde o método de coleta, análise laboratorial até a interpretação. Tais particularidades relacionadas a espécie, raça, sexo, aptidão física e estado de vida do animal fazem com que o médico veterinário patologista clínico e o clínico tenham que fazer uma avaliação criteriosa dos exames hematológicos. O objetivo da presente revisão é aprofundar características dos diversos aspectos da hematologia e nas alterações hematológicas de ruminantes domésticos, enfatizando particularidades das espécies. Para isso, serão abordadas informações sobre morfologia das células do sangue, distúrbios e demais informações relevantes para o auxílio no diagnóstico clínico. O hemograma em ruminantes é uma excelente ferramenta para avaliação das condições sanitárias de animais individuais ou em rebanho. Cabe ao patologista clínico e ao clínico veterinário conhecer as particularidades das espécies para proporcionar resultados de qualidade que irão auxiliar na interpretação e na prática clínica em geral.

Palavras-chave: anemia, eritrograma, leucograma, leucopenia, trombocitopenia.

ABSTRACT

Hematologic exams are essential in large animal practice, and with clinical assessment, provide relevant information for the diagnosis, monitoring and prognosis of several diseases. In domestic ruminants' hematology, there are particularities since the blood collection method, laboratorial analysis until the interpretation. Ruminant species, breed, gender, production are aspects that must be considered by clinical pathologist and clinician for evaluation of hematologic exams. The objective of this present review is reporting the particularities of hematology and hematologic alterations in domestic ruminants. Blood cell morphology, hematologic disorders and other relevant information for ruminants were highlighted. In domestic ruminants, complete blood count is an excellent tool for evaluation of sanitary conditions from individual animals or herds. Is strongly recommended that the clinical pathologist and the veterinary clinician recognize the particularities of the species to improve the quality of results and interpretation.

Keywords: anemia, erythrogram, leukopenia, leukogram, thrombocytopenia.



INTRODUÇÃO

■ Importância da hematologia na clínica de ruminantes domésticos

A avaliação de diferentes parâmetros hematólogicos é essencial para complementar os achados clínicos em relação ao estado de saúde dos ruminantes, sendo que em alguns casos as alterações nos exames laboratoriais são anteriores aos sinais clínicos no indivíduo ou rebanho. Define-se hemograma como o exame que avalia os componentes celulares do sangue, sendo estes os eritrócitos, leucócitos e plaquetas, bem como as suas variações fisiológicas e alterações em condições patológicas. Em ruminantes domésticos, o exame fornece valiosas informações que colaboram com as decisões clínicas em diversas doenças bem como a avaliação da saúde geral dos animais individuais ou rebanho^{1,2}.

Na veterinária, o surgimento de novas tecnologias, como os analisadores hematólogicos automatizados, proporcionou um incremento importante na realização do hemograma, abrangendo cada vez mais espécies e parâmetros. Não obstante, a avaliação do esfregaço sanguíneo por parte de um patologista clínico veterinário ainda se faz essencial, pois possibilita a conferência dos resultados obtidos pelo analisador, a observação de alterações morfológicas celulares ou presença de microrganismos infectocontagiosos que normalmente não são detectados na automação^{3,4}. Além disso, a análise do esfregaço sanguíneo é necessária para confirmar as alterações da morfologia celular conforme a espécie avaliada⁵.

Para a interpretação dos exames de hematologia, é fundamental o uso de intervalos de referência (IR) estabelecidos conforme a espécie, idade, tipo de aptidão e método analítico do laboratório ao qual a amostra será submetida. A elaboração de valores de referência deve obedecer às normas específicas tais

como número de animais amostrados e análise estatística. Ao longo do tempo, têm sido estabelecidos intervalos de referência para bovinos, e pode ser observada diferenças de valores entre as raças de produção leiteira⁶ e de carne. Os IR de hematologia fornecidos pela literatura (Tabela 1) são valores que guiam a interpretação dos exames de hematologia, no entanto, o médico veterinário deverá utilizar IRs que atendem os critérios do animal a ser avaliado.

Devido a adaptação metabólica para a produção de leite, vacas leiteiras podem ter variações no hemograma conforme o estágio de produção (Tabela 2) e por esse motivo, os IRs devem ser aplicados especificamente para os diferentes estágios⁶.

Os objetivos do presente artigo envolvem a abordagem da hematologia em ruminantes domésticos considerando as particularidades das espécies e fases produtivas através do detalhamento da coleta das amostras, avaliação laboratorial, interpretação do exame e particularidades das células do sangue.

COLETA DA AMOSTRA DE SANGUE PARA EXAMES DE HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA

A escolha do local ideal para a coleta de amostras de sangue obedece a característica de fácil acesso ao vaso e que este não colapse durante a coleta. Nos bovinos, as veias mais frequentemente usadas são a coccígea e a jugular, embora a veia mamária também possa ser acessada, apesar do risco de formação de hematoma ou abscesso no local^{2,10}. Em pequenos ruminantes, a veia jugular é a mais indicada e a contenção correta é importante para minimizar o estresse na coleta da amostra de sangue¹¹.

Independente da espécie, o animal deve ser bem contido em local calmo, para evitar alterações nos exames, tais como aquelas induzidas por liberação de hormônios associados a estresse, ou hemólise por causa de uma coleta difícil². No caso da hematologia, uma

Tabela 1. Intervalos de referência para hematologia de ruminantes domésticos adultos.

Parâmetro (unidade)	Bovinos ⁷	Bubalinos ⁸	Caprinos ⁷	Ovinos ⁹
Hematócrito (%)	22 a 32	25,2 a 47,2	22 a 38	27 a 45
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5,1 a 7,6	3,7 a 9,2	8,0 a 18,0	9 a 17,5
Hemoglobina (g/dL)	8 a 12	8,8 a 15,6	8 a 12	9 a 15,8
VCM (fL)	38 a 50	33,1 a 82,5	16 a 25	28 a 40
CHCM (g/dL)	36 a 39	NR	30 a 36	31 a 34
RDW	16 a 20	NR	NR	NR
Reticulócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0	NR	NR	NR
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	193 a 637	58 a 482	300 a 600	310 a 340
Leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	4,9 a 12,0	2,2 a 14,7	4,0 a 13,0	4,0 a 12
Neutrófilos segmentados ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1,8 a 6,3	0,9 a 7,3	1,2 a 7,2	1,5 a 9,0
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0 a 0,9	0 a 5	0,1 a 0,7	0 a 1
Basófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0 a 0,3	NR	0 a 0,1	0 a 0,3
Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1,6 a 5,6	2,2 a 8,6	2,0 a 9,0	2 a 9,0
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0 a 0,8	0 a 8	0 a 0,6	0 a 0,6
Fibrinogênio (mg/dL)	300 a 700	NR	100 a 500	100 a 600

NR = não reportado na literatura.

Tabela 2. Intervalos de referência (média desvio padrão) de parâmetros hematológicos de vacas leiteiras no pré-parto, após parto (dois e oito dias) e no pico da lactação (entre trinta e 120 dias).

Parâmetro (unidade)	Pré-parto	Pós-parto		Pico da lactação
		2 dias	8 dias	
Hematócrito (%)	27,5 (\pm 2,4)	28,9 (\pm 2,8)	22,6 (\pm 2,4)	23,8 (\pm 2,8)
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	6,34 (\pm 0,62)	6,65 (\pm 0,69)	6,22 (\pm 0,62)	5,74 (\pm 0,62)
Hemoglobina (g/dL)	10,7 (\pm 0,99)	11,12 (\pm 1,03)	10,27 (\pm 0,90)	9,26 (\pm 1,05)
VCM (fL)	43,5 (\pm 3,3)	43,61 (\pm 3,65)	43 (\pm 3,6)	41,45 (\pm 3,21)
CHCM (g/dL)	38,9 (\pm 1,36)	38,55 (\pm 1,53)	38,61 (\pm 1,75)	38,94 (\pm 1,26)
Leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	8,89 (\pm 1,88)	8,97 (\pm 2,84)	8,56 (\pm 2,83)	8,35 (\pm 2,30)
Neutrófilos segmentados ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	3,83 (\pm 1,37)	4,17 (\pm 2,27)	4,05 (\pm 2,55)	3,53 (\pm 1,57)
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,52 (\pm 0,37)	0,28 (\pm 0,20)	0,3 (\pm 0,32)	0,34 (\pm 0,25)
Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	3,63 (\pm 0,81)	3,41 (\pm 1,08)	3,45 (\pm 0,97)	3,44 (\pm 0,95)
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,53 (\pm 0,26)	0,77 (\pm 0,47)	0,57 (\pm 0,31)	0,55 (\pm 0,23)
Relação N:L	1,04 (\pm 0,36)	1,16 (\pm 0,68)	1,33 (\pm 1,26)	0,99 (\pm 0,38)
Fibrinogênio (mg/dL)	419 (\pm 79)	ND	469 (\pm 139,9)	510 (\pm 129)
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	313,8 (\pm 99,9)	334,9 (\pm 117,4)	397,6 (\pm 156,1)	518,9 (\pm 138,2)

ND = não determinado. Adaptado de Tsiamadis et al.⁶



coleta de amostra de sangue de maneira traumática favorece a ativação e agregação plaquetária, que resulta em uma falsa redução no número de plaquetas e alteração nos índices hematimétricos, nos analisadores hematológicos automatizados¹⁰.

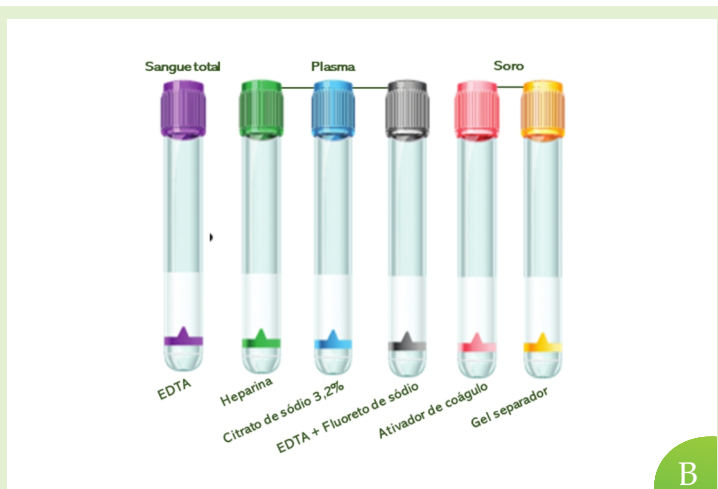
Para a coleta da amostra de sangue, dependendo do tamanho do animal, pode-se usar agulha de 18 ou 20G sendo que para animais neonatos a 22G pode ser utilizada (Figura 1A). A amostra poderá ser obtida através de seringas de 5 ou 10 mL, embora o sistema a vácuo seja mais prático e proporcione menores chances de artefatos produzidos pela coleta da amostra de sangue. Para uma obtenção de sangue de maneira asséptica, o local deve ser, preferencialmente, tricotomizado seguido da higienização com solução de álcool 70% com auxílio de uma gaze ou algodão limpos. Locais extremamente sujos com barro e/ou fezes devem ser previamente lavados com água e sabão antes dos procedimentos de desinfecção. Após a obtenção do sangue, o local deverá ser pressionado com gaze ou algodão secos estéreis e a amostra deverá ser cuidadosamente depositada em tubos específicos de acordo com a análise a ser solicitada, obedecendo o volume descrito no tubo. Uma vez que os anticoagulantes se apresentam liofilizados nas paredes internas dos tubos, a homogeneiza-

ção do sangue é outra etapa importante que garante o contato do sangue com o anticoagulante^{2,10,11}. Quanto ao tipo de tubo a ser utilizado para o acondicionamento das amostras de sangue, este deve ser escolhido conforme a análise a ser realizada (Figura 1B e Quadro 1).

Embora o uso de heparina como anticoagulante seja prático porque permite realizar as análises bioquímicas a partir do plasma, o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) é o anticoagulante ideal para realização do hemograma, já que fornece a melhor preservação celular, e, portanto, uma análise mais confiável¹². Também, é importante colocar a quantidade de sangue indicada pelo fabricante do tubo, já que se for muito pouco sangue, a desproporção com o EDTA pode induzir hemólise ou diluição, alterando alguns índices eritrocitários tais como o *packed cell volume* (PCV) ou hematócrito, o volume corpuscular médio (VCM), a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e as proteínas plasmáticas totais (PPTs)^{2,10}. Após a coleta, o sangue deverá ser depositado cuidadosamente nos tubos para evitar hemólise, principalmente em caprinos. Devido a redução do tamanho dos eritrócitos e a maior probabilidade de rompimento celular nessa espécie, recomenda-se evitar a coleta à vácuo¹¹.



A



B

Figura 1. Material utilizado para a coleta de amostra de sangue (A) Agulhas: 22G, 20G, 18G e 22G de vacutainer e (B) tubos para acondicionamento das amostras de sangue, para obtenção de sangue total, plasma e soro.



Quadro 1. Descrição das características dos tubos para coleta de sangue para obtenção de sangue total, plasma e soro.

TAMPA	FUNÇÃO	ADITIVOS	APLICAÇÃO	AMOSTRA
Roxa	Anticoagulante	EDTA (Ácido Etilenodiamino Tetra -Acético)	Hemograma Contagem de plaquetas Contagem de reticulócitos Provas de compatibilidade	Sangue total
Verde		Heparina de lítio ou sódio	Testes bioquímicos	Plasma
Azul		Citrato de sódio a 3,2%	Provas de coagulação	
Cinza		EDTA + Fluoreto de sódio	Dosagem de glicose Dosagem de lactato	
Vermelha	Ativador de coágulo	Tubo seco	Testes bioquímicos Testes sorológicos	Soro
Amarela		Gel		

O sangue para hemograma deverá ser encaminhado ao laboratório imediatamente após a obtenção da amostra e caso não seja possível, poderá ser analisada em até 24 horas, desde que mantida refrigerada a 4°C (Figura 2).

Nos casos em que o envio da amostra até o laboratório seja tardio, é recomendado a realização de esfregaço sanguíneo com sangue fresco para garantir a análise da morfologia celular (Figura 3), principalmente dos leucócitos que sofrem alterações dependentes do tempo de contato com o EDTA¹¹. As alterações associadas ao estoque e ao contato do sangue com o EDTA atingem principalmente os parâmetros da linhagem eritrocitária e o volume das plaquetas¹³, o que pode impactar na interpretação dos resultados. Em amostras com análise tardia, as contagens de plaquetas já ficam inviáveis após quatro a seis horas de obtenção da amostra². Em um estudo comparando os parâmetros de hemograma em bovinos, caprinos e suínos, foi verificado que o valor de hematócrito permaneceu estável por doze horas com aumento em 24 horas após a coleta¹⁴. Para hematologia, o sangue não pode ser congelado e sempre que possível, instruções sobre armazenamento e envio devem ser buscadas no laboratório ao qual a amostra será enviada.



Figura 2. Exemplo de acondicionamento de amostras de sangue em caixa térmica para o transporte contendo gelo reutilizável. Os tubos devem ser transportados em pé e sem o contato com as superfícies geladas.

Em veterinária, os contadores hematológicos automatizados rapidamente fornecem valores das contagens das células do sangue, além de índices calculados de maneira precisa, desde que bem calibrados e validados. No entanto, parasitas sanguíneos, corpúsculos de Heinz, esferócitos, eritrócitos nucleados, alterações da morfologia leucocitária, tais como neutrófilos bastonetes ou alterações tóxicas, não podem ser detectados pelos equipamentos. Por esse motivo, a avaliação do esfregaço sanguíneo por um patologista clínico veterinário deverá sempre ser realizada^{2,5}.



Figura 3. Preparo (1 a 4) e erros mais comuns na confecção de esfregaço sanguíneo. (A) Borda irregular da lâmina extensora, (B) pausas na hora de mover a lâmina extensora, (C) movimento muito rápido, (D) gota de sangue muito pequena, (E) gota de sangue concentrada no centro da lâmina, (F) sujeira ou gordura na lâmina ou amostra lipêmica, (G) pressão desigual na lâmina extensora, (H) demora na confecção do esfregaço (gora seca) e (I) esfregaço ideal (Adaptado de Rodak et al.¹⁵).



ERITRÓCITOS

■ Morfologia e metabolismo eritrocitário

Os eritrócitos são células anucleadas e desprovidas de organelas, quando maduras. Em ruminantes domésticos, na maioria das espécies, os eritrócitos possuem formato discoide, são menores do que os de humanos e ocorre a falta do halo central claro². O eritrócito bovino é bicôncavo, tem um tamanho de 5 a 6 μm e uma meia vida aproximada de 130 dias¹⁶. Já os eritrócitos de ovinos, são os menores dentre os mamíferos, enquanto os dos caprinos da raça Angorá podem ter o formato fusiforme à discoide^{16,17}. Nas espécies não domésticas, como os camelídeos e cervídeos, estes possuem eritrócitos com formato diferenciado comparado aos de ruminantes domésticos^{16,17}.

A função primordial do eritrócito é transportar oxigênio dos pulmões para os tecidos e gás carbônico no sentido inverso. Dado que o eritrócito não tem a capacidade de sintetizar proteínas, o seu gasto energético está completamente voltado à manutenção da sua estabilidade estrutural e funções enzimáticas que auxiliem na distribuição de oxigênio para os tecidos¹⁹. Os

eritrócitos são produzidos na medula óssea, e o processo de diferenciação e maturação é denominado de eritropoiese. Durante a eritropoiese, acontece a síntese de hemoglobina e a condensação do núcleo dos precursores eritróides até a remoção, passando a formar os reticulócitos, que posteriormente amadurecem, removendo resíduos de organelas e adaptando ao formato bicôncavo, característico do eritrócito maduro^{19,20}. O estímulo para a produção de eritrócitos é dado através da secreção da eritropoietina (EPO), que determina o aumento e a velocidade da eritropoiese. A produção do hormônio é regulada pelo fator induzível por hipóxia 1 α (HIF-1 α), controlado pela concentração de oxigênio no sangue. A hipóxia tecidual promove o aumento da concentração de EPO na circulação, que posteriormente irá se ligar aos receptores localizados principalmente nas células das unidades formadoras de colônia eritróide, na medula óssea.

■ Avaliação laboratorial dos eritrócitos

Para a avaliação da massa eritrocitária, utiliza-se o volume globular (VG), também denominado de hematócrito (HCT) ou o PCV, a concentração de hemoglobina (Hb) e a contagem total de eritrócitos da



amostra. O PCV é mensurado pelo método do micro-hematócrito, avaliando a porcentagem correspondente à fração dos eritrócitos do volume total de sangue. Já o HCT ou VG é o parâmetro calculado pelo analisador hematológico e corresponde ao PCV. A contagem de eritrócitos pode ser obtida manualmente, através da contagem em câmara de Neubauer (Figura 4) ou nos analisadores hematológicos automatizados calibrados para a espécie desejada. Já a concentração de Hb pode ser determinada pelo analisador hematológico ou por análise bioquímica. A avaliação automatizada de sangue de pequenos ruminantes deve ser realizada em analisadores com configurações específicas para estas espécies, pois os eritrócitos possuem um menor volume comparado a outros mamíferos, e por esse motivo, podem ser contados como plaquetas em aparelhos configurados para outras espécies, até mesmo para humanos^{2,22}.

Com os valores de eritrócitos, PCV e Hb, pode-se calcular o volume corpuscular médio (VCM), que indica o tamanho médio do eritrócito, o HCM e a CHCM, que indica a concentração de hemoglobina na célula e corresponde a cor do eritrócito. Em contadores automatizados, pode-se ainda obter o valor de *red blood cell distribution width* (RDW), que indica o grau de

variação do tamanho do eritrócito.

Quanto a interpretação dos índices eritrocitários, o aumento do VCM é denominado de macrocitose, que pode ser observado em anemias regenerativas, enquanto a redução do VCM é denominada de microcitose, que pode ser observada em animais com deficiência de ferro (Fe) ou cobre (Cu), porém, pode ser observado em bezerros saudáveis.

No caso do CHCM, a redução do valor do índice é denominada de hipocromasia e é observada principalmente em casos de anemia ou deficiência de Fe, e também em bezerros de menos de cinco semanas de idade²⁰. O valor de CHCM acima do valor de referência é atribuído principalmente a artefatos como hemólise, icterícia ou lipemia, hiperproteinemia e leucocitose acentuadas, além de elevada proporção de corpúsculos de Heinz^{1,2,13}. Esse valor falsamente elevado indica um erro analítico que deve ser levado em consideração na interpretação do hemograma em ruminantes domésticos.

Alguns parâmetros hematológicos e bioquímicos variam de acordo com a idade, portanto, não é recomendável usar intervalos de referência estabelecidos para animais adultos quando for efetuar a interpretação de exames de animais jovens e neonatos^{13,23,24}. Elevação

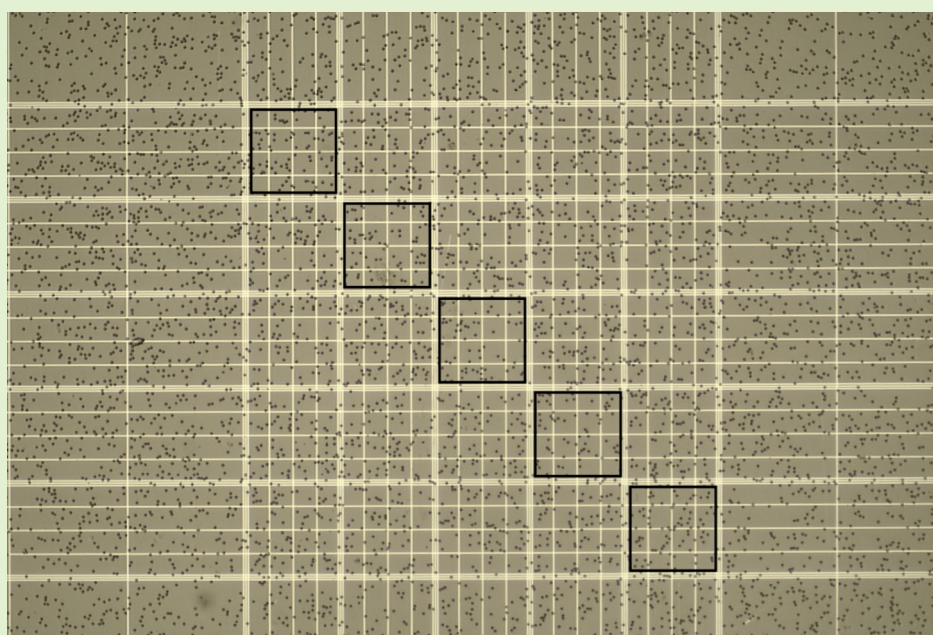


Figura 4. Fotomicrografia (aumento de 10x) dos retículos de contagem de uma câmara de Neubauer evidenciando a área específica para contagem de eritrócitos. Para obtenção dos valores de eritrócitos totais, são contadas as células dispersas em cinco quadrados, conforme o destaque.



da contagem total de eritrócitos e redução do VCM e CHCM, em comparação com animais adultos, foram observados em bezerros do nascimento até os seis meses de idade^{23,24}.

De uma maneira geral, as alterações no eritrograma não são incomuns na prática clínica de animais de produção. Integrar os resultados do hemograma com as alterações clínicas e anamnese do rebanho permitirá ao clínico identificar a potencial causa das alterações, bem como considerar exames complementares que contribuam no diagnóstico e no monitoramento das condições sanitárias de animais individuais ou no rebanho.

■ Alterações da morfologia eritrocitária em ruminantes

As alterações de morfologia eritrocitária são divididas em anormalidades de distribuição, cor e formato e devem ser avaliadas em esfregaços sanguíneos corados (Figura 5) e reportadas nos laudos de hemograma.

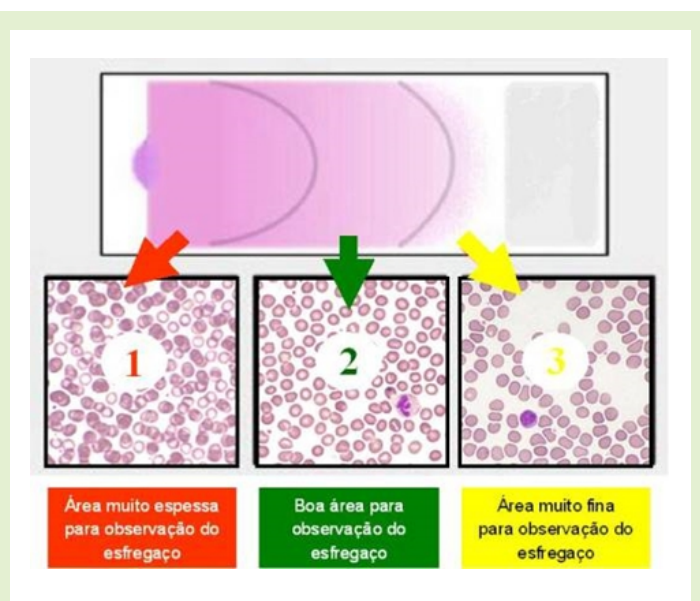


Figura 5. Distribuição das células no esfregaço sanguíneo (Fonte: LACVET/UFRGS²⁵).

Dentre as anormalidades de distribuição, estão a aglutinação e o *rouleaux*. A aglutinação surge em decorrência da presença de anticorpos associados à membrana dos eritrócitos, o que induz a sua aglutinação em formato microscópico semelhante a “cachos de uva”. Este achado pode ser indicativo de anemia hemolítica imunomediada, que frequentemente está associada a hemoparasitoses². Já o *rouleaux* é o empilhamento de eritrócitos, semelhante a uma pilha de moedas e comumente associado a elevada concentração das PPTs, principalmente globulinas e fibrinogênio^{2,26,27}. Para diferenciar entre a aglutinação e o *rouleaux*, deve ser realizado o teste de aglutinação em salina. Neste teste, o *rouleaux* é dispersado, enquanto a aglutinação continua presente. Nos casos de aglutinação, pode-se realizar também o teste de Coomb's, porém a sensibilidade do ensaio pode ser afetada por vários fatores, havendo possibilidade de resultados falsos negativos em animais com anemia hemolítica imunomediada^{27,28}.

As alterações da cor dos eritrócitos estão geralmente associadas ao conteúdo de hemoglobina na célula. A policromasia indica a presença de policromatófilos que são reticulócitos, eritrócitos imaturos, que apresentam coloração basofílica em função de possuírem organelas, tais como ribossomos ou mitocôndrias no citoplasma^{2,26}. Em colorações hematológicas de rotina (tipo Romanowsky), a presença dessas estruturas confere uma cor mais azulada aos eritrócitos. A confirmação da presença de reticulócitos é realizada através da coloração da amostra com corantes supravitais (azul cresil brilhante e novo azul de metileno) que cora as organelas (Figura 6), facilitando a observação microscópica e a contagem no esfregaço sanguíneo²⁶. Uma vez que o reticulócito corresponde a um eritrócito mais jovem, e a sua liberação pela medula está diretamente relacionada a concentração de EPO, a policromasia pode ser um indicador de anemia regenerativa, porém pouco específico. Por este motivo, a avaliação laboratorial da contagem ou porcentagem de reticulócitos deverá sempre ser realizada em animais anêmicos para con-

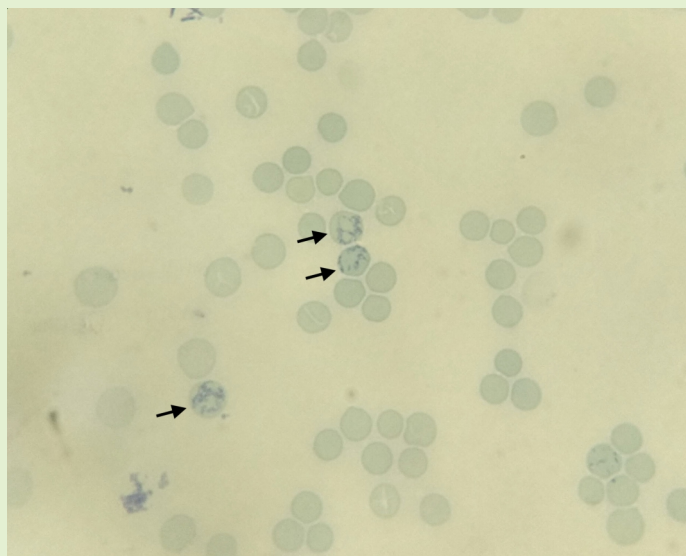


Figura 6. Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de ovino corado com corante supravital evidenciando reticulócitos agregados (setas). Aumento 100x em imersão (Foto: M.F. Balaro).

firmação da resposta da medula óssea^{2,27}.

O aumento no número de reticulócitos circulantes está diretamente associado a resposta regenerativa da medula óssea. No caso da hipocromasia, esta é associada a redução da hemoglobina nos eritrócitos e nos esfregaços sanguíneos, aparecem como eritrócitos com a área central mais clara. Essa alteração está geralmente associada a deficiência de Fe, uma vez que o mineral é necessário para a síntese da Hb, e na defi-

ciência prolongada de Cu^{2,26}.

Com relação as alterações de tamanho eritrocitário, todas devem ser avaliadas nos esfregaços sanguíneos corados, quantificadas e descritas no laudo do hemograma. A anisocitose indica a variação no tamanho dos eritrócitos, e está intrinsecamente ligada ao volume celular. Em ruminantes domésticos saudáveis, é possível observar fisiologicamente anisocitose (Figura 7) de leve a moderada, além de uma maior variabilidade no formato dos eritrócitos, especialmente em bezerros¹⁶ e cabras²⁶.

As alterações no formato dos eritrócitos são denominadas de poiquilocitose e o significado depende do tipo de alteração eritrocitária (Quadro 2). Essas alterações de formato podem ser observadas em animais anêmicos e animais jovens²⁹.

A presença de corpúsculos de Howell-Jolly (Figura 7) deve ser criteriosamente avaliada no esfregaço sanguíneo, pois facilmente pode ser confundido com parasitas sanguíneos (principalmente *Anaplasma marginale*)². Tais corpúsculos são fragmentos de núcleo remanescentes, que podem indicar disfunção esplênica, que interferem na função fagocítica do baço, ou estarem presentes nas anemias regenerativas.

Os corpúsculos de Heinz são precipitados de hemoglobina oxidada que se originam através de

Quadro 2. Alterações morfológicas dos eritrócitos e suas possíveis causas.

Acantócitos	Eritrócitos com projeções irregulares na membrana resultante de anormalidades lipídicas associadas à doença hepática podendo ser encontrados em caprinos jovens e bezerros anêmicos ² .
Equinócitos	Projeções espaçadas na membrana eritrocitária e podem estar associados a artefatos (normalmente de secagem da lâmina) ou associados a distúrbios eletrolíticos.
Esquistócitos	Fragmentos de eritrócitos associados a trauma intravascular e visualizado em animais com coagulopatia de consumo (coagulação intravascular disseminada), vasculite, glomerulonefrite e deficiência de Fe ^{26,27} .

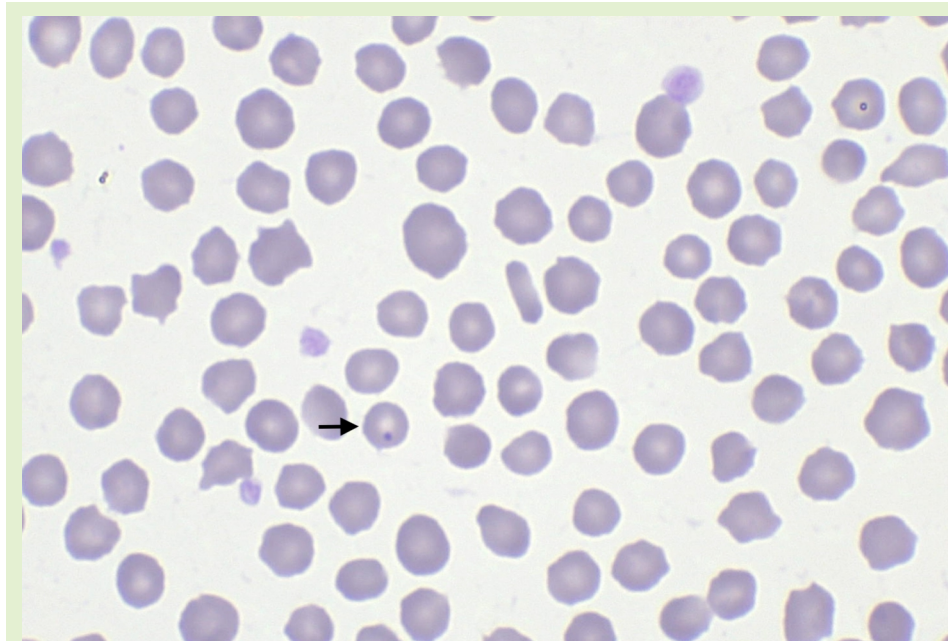


Figura 7. Fotomicrografia de esfregaço de sangue de ovino com discreta anisocitose. Presença de um eritrócito com corpúsculo de Howell-Jolly (seta). Corante Panótico Rápido, aumento de 100x em imersão.

danos oxidativos no eritrócito que, conseqüentemente, podem ocasionar danos na membrana eritrocitária⁷. Ao microscópio e nas colorações de rotina, são caracterizadas como estruturas pequenas circulares e pálidas localizadas na periferia do eritrócito. Com o uso de corantes supravitais (azul de metileno), os corpúsculos podem ser visualizados e devem ser quantificados pelo patologista clínico para serem reportados no laudo. A presença de corpúsculos de Heinz torna os eritrócitos mais suscetíveis a hemólise intra e extravascular², e assim o animal pode manifestar anemia²⁷. A sua formação está associada a ingestão de substâncias oxidantes (cebola e plantas do gênero *Brassica*), deficiências de minerais tais como fósforo (P), selênio (Se) e Cu e toxicidade pelo Cu².

Um pequeno número de eritrócitos nucleados pode ser visualizado em esfregaços sanguíneos de ruminantes e ser associado às anemias regenerativas, desde que em conjunto com a policromasia e a reticulocitose. Danos tóxicos, hipóxia e neoplasias na medula óssea podem ocasionar a presença dessas células no sangue periférico, porém, outras alterações no exame devem estar presentes²⁷.

ANEMIA

A anemia é uma condição definida como redução da massa eritróide, que ocasiona redução da pressão arterial de oxigênio (PaO₂) e é manifestada no hemograma através da redução da contagem de eritrócitos (Figura 8), PCV e concentração de hemoglobina. De uma maneira geral, a etiologia da anemia pode ser classificada em perda de sangue, hemólise ou redução/ausência da produção de eritrócitos na medula óssea.

A melhor abordagem inicial da anemia é a determinação se há resposta regenerativa da medula óssea frente a redução da massa eritrocitária⁷. Através da porcentagem ou contagem de reticulócitos pode-se determinar se a anemia é regenerativa ou não regenerativa²⁶. Em ruminantes, os sinais de regeneração no hemograma também podem ser manifestados através da policromasia moderada a acentuada, presença de pontilhado basofílico nos eritrócitos, presença eritrócitos nucleados, anisocitose e macrocitose. No entanto, tais manifestações são imprecisas frente a determinação da concentração de reticulócitos. Anemias resultantes da hemorragia e hemólise tendem a ser regenerativas enquanto àquelas relacionadas a redução ou

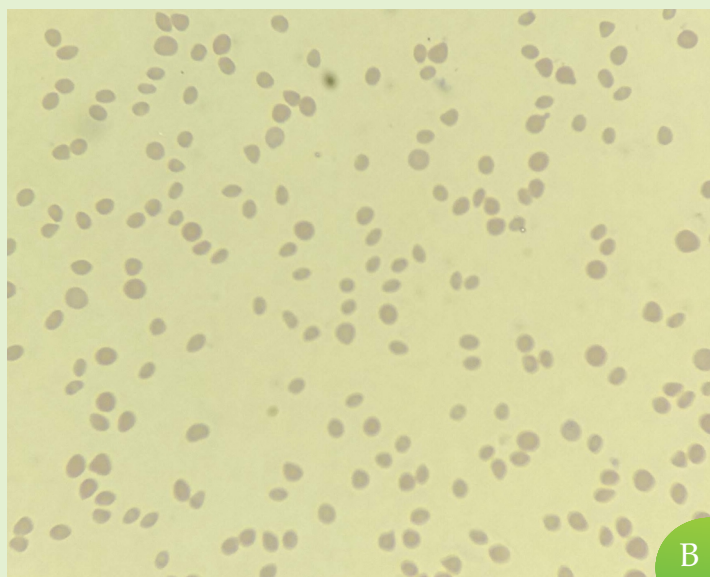
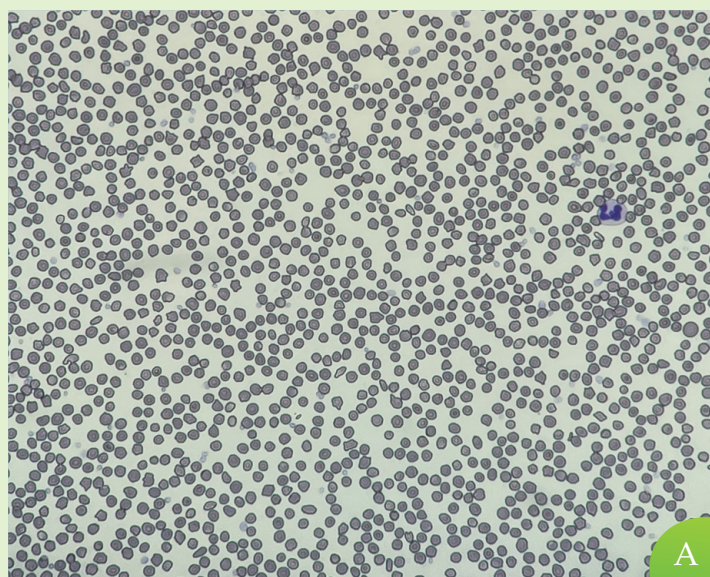


Figura 8. Fotomicrografias de esfregaço sanguíneo de ovino corado com Panótico Rápido. (A) Esfregaço normal (aumento 40x) e (B) com anemia evidenciando a distribuição escassa de eritrócitos no segundo esfregaço (aumento 100x em imersão) (Foto (B) M.F. Balara).

ausência da produção de eritrócitos são fracamente regenerativas ou não regenerativas^{2,27,30}.

A resposta regenerativa de uma anemia hemorrágica ou hemólise em ruminantes pode ser aparente no hemograma entre dois e quatro dias do início do processo com um pico de resposta em sete dias²⁷. Esse é o tempo necessário para a medula óssea responder aos estímulos periféricos de hipóxia e desenvolver a eritropoiese perante a atuação da EPO.

Ao interpretar o hemograma, a determinação da gravidade da anemia deverá ser avaliada conforme o valor do PCV. Em ruminantes domésticos, as anemias podem ser classificadas, de acordo com o PCV/hematócrito em médias (20 a 26%), moderadas (14 a 19%), graves (10 a 13%) e muito graves (> 10%)³¹ (Figura 9). Essa avaliação auxilia na determinação da causa uma vez que anemias hemolíticas graves e mielo-fibrose podem ocasionar uma redução drástica do PCV enquanto a anemia da doença crônica pode proporcionar reduções médias a moderadas no parâmetro. A gravidade e o tempo de anemia também determinam os sinais clínicos do animal.

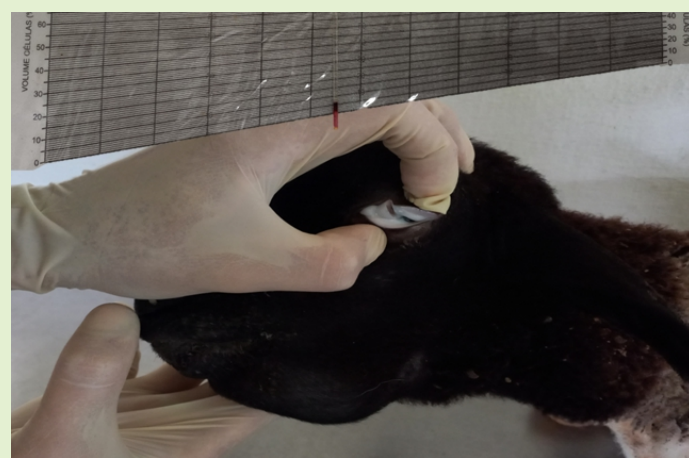


Figura 9. Ovino da raça Dorper de quatro meses, apresentando anemia muito grave (PCV = 6%) devido hemoncose, com quadro clínico de mucosas oculares pálidas, edema submandibular e decúbito esternal (Foto: Ambulatório de Grandes Animais/UFRPE).

■ Anemia por hemorragia

Na fase inicial de processos hemorrágicos, o PCV e as PPTs encontram-se dentro do intervalo de referência. O decréscimo destes parâmetros acontece



só após a redistribuição de fluídos que saem do espaço intersticial para o vascular, junto com o aumento do estímulo de sede e da concentração da urina, com a finalidade de normalizar a volemia²⁴. De uma maneira geral, as alterações podem ser visualizadas no exame entre 24 e 48 horas após o evento hemorrágico². Na hemorragia externa ao corpo, a resposta regenerativa tende a ser menos robusta quando comparado a hemorragia interna em que a reciclagem do Fe é preservada.

Inicialmente, a anemia pode se mostrar regenerativa, porém, se a hemorragia for constante, a depleção do Fe pode torná-la fracamente regenerativa ou até não regenerativa^{27,31}. As principais causas deste tipo de anemia em bovinos são hemorragias por trauma, infestação por parasitas hematófagos, úlcera abomasal, enterite hemorrágica e alterações na hemostasia¹. Em pequenos ruminantes, a infestação por nematódeos gastrointestinais, como o *Haemonchus contortus* (Figura 9), é uma das principais causas de anemia, gerando enormes prejuízos econômicos³².

■ Anemia por hemólise

Hemólise é um processo que pode ser fisiológico (senescência dos eritrócitos) ou patológico, devido a presença de eritrócitos anormais na circulação (mudanças na membrana, parasitismo, entre outras causas). Esse processo de remoção dos eritrócitos circulantes pode ocorrer por via extravascular (no baço) ou intravascular. Quando a hemólise for intravascular, os sinais de hemoglobinemia (aumento da concentração de Hb) e hemoglobinúria (presença de Hb na urina) podem ser visualizados nos exames laboratoriais. Já na hemólise extravascular, sinais de hiperbilirrubinemia, icterícia, eritrócitos com morfologia anormal e bilirrubinúria podem estar presentes^{7,31}.

A anemia hemolítica é causada principalmente por parasitas sanguíneos, seguido por toxinas, desequilíbrios eletrolíticos, hiposmolaridade e reações autoi-

munes. Em bovinos, pode estar associada a ingestão de tóxicos (*Brassica* spp., *Allium cepa*, *Lolium* spp.), microrganismos que afetam os eritrócitos (*A. marginale*), protozoários (*Babesia* spp., *Theileria* spp., *Trypanosoma* spp. e *Sarcocystis* spp.) e bactérias (*Leptospira* spp. e *Clostridium* spp.)^{1,2,27,28}. Os hemoplasmas *Mycoplasma wenyonii* (em bovinos) e o *Mycoplasma ovis* (em ovinos) podem ocasionar anemia hemolítica em animais imunossuprimidos. Além deles, há relatos de anemia hemolítica ocasionada por deficiência e intoxicação por Cu e por hipofosfatemia³³.

Em pequenos ruminantes, a anemia por hemólise pode acontecer após ingestão de toxinas (como compostos sulfúricos presentes na cebola ou em plantas do gênero *Brassica*), infecção por hemoparasitas, administração de soluções hipo ou hipertônicas endovenosas, intoxicação com água, por toxinas bacterianas ou imunomediadas. Os ovinos, principalmente os da raça Suffolk, são particularmente sensíveis à intoxicação por Cu, enquanto os caprinos apresentam maior tolerância³⁴. Uma causa menos frequente de anemia em cordeiros é a síndrome do cordeiro anêmico, que se caracteriza por anemia hemolítica imunomediada grave em cordeiros que receberam colostro de vacas com anticorpos contra os eritrócitos ovinos. A administração de colostro bovino em pequenos ruminantes é indicada em caso de animais órfãos. O tratamento da condição consiste em medidas de suporte e identificação do bovino, para evitar a utilização do seu colostro em alimentação de neonatos ovinos e caprinos³⁵.

Na maioria das vezes, a anemia hemolítica tende a ser regenerativa e, em vários casos, apresenta hiperproteinemia concomitantemente. Na avaliação morfológica dos eritrócitos, podem se observar excêntricos, esquistócitos, corpúsculos de Heinz, inclusões de parasitas ou até aglutinação. A presença de hemoglobinúria pode ser um indicativo deste tipo de anemia, porém, o laboratório deve diferenciar da mioglobinúria, que são ocasionadas por etiologias diferentes. A hemoglobinúria é potencialmente nefrotóxica, e em



processos hemolíticos agudos pode levar a necrose tubular³⁶.

Anemia por eritropoiese ineficiente ou ausente

Em medicina veterinária, a causa mais frequente da anemia por eritropoiese ineficiente é a anemia da doença crônica⁷. Antigamente denominada de anemia da inflamação, essa condição ocorre devido as citocinas liberadas por processos inflamatórios ou neoplásicos que ocasionam o sequestro do Fe nos macrófagos da medula óssea, tornando o mineral indisponível para eritropoiese. A anemia nestes casos tende a ser normocítica, normocrômica e não regenerativa, sendo que alterações morfológicas não são observadas^{2,18}. Concomitantemente pode ocorrer hiperproteinemia, hiperglobulinemia e elevação no fibrinogênio plasmático nos animais afetados². Essa condição deve ser diferenciada da anemia por deficiência nutricional de Fe ou perda de sangue crônica através das características do hemograma e de testes que avaliam o estoque de Fe, tais como a citologia da medula óssea e a determinação da ferritina³⁷.

Quadros de insuficiência renal crônica também podem induzir a uma anemia não regenerativa, de moderada a grave, por causa da redução na síntese de EPO, que leva à redução de eritropoiese na medula². Nesta situação, o diagnóstico baseia-se nos achados bioquímicos e de urinálise, que respaldem a presença do processo.

A anemia por deficiência na produção de eritrócitos em pequenos ruminantes pode ser observada principalmente em processos inflamatórios crônicos, fêmeas prenhas ou em deficiência nutricional de determinados minerais (Fe, Se, Cu e zinco)³⁴. Quando as possíveis causas de anemia não regenerativa forem excluídas, a citologia de medula óssea é indicada, especialmente se há outras citopenias em conjunto (neutropenia e/ou trombocitopenia)²⁷.

Outras causas de anemia não regenerativa, incluem toxicose, como a aplasia medular induzida por *Pteridium aquilinum* que pode levar a anemia não rege-

nerativa, leucopenia e trombocitopenia em bovinos³⁸ e em ovinos²², apesar destes últimos serem menos suscetíveis à intoxicação. A infecção experimental por *Ehrlichia* spp., descrita em bovinos, induziu a anemia e trombocitopenia³⁹.

No caso dos pequenos ruminantes, para avaliação de anemia por parasitismo à campo, foi desenvolvida uma técnica rápida denominada de Método FAMACHA®, que consiste em comparar a cor da mucosa conjuntival com uma tabela de cores preestabelecida, associando a cor a um grau de anemia⁴⁰. Este método tem demonstrado sensibilidade moderada a boa, praticidade e baixo custo, o que permite a sua utilização em rebanhos numerosos, principalmente em anemias por infestação por *H. contortus* ou outros parasitas. Pode haver variações na leitura dependendo da raça dos animais, por conta da coloração da mucosa, o que deve ser considerado antes da utilização deste método⁴¹.

Em resumo, o diagnóstico da anemia é realizado através do hemograma, em conjunto e de maneira integral com o histórico do animal, características da região e ambiente, condições nutricionais e de saúde do rebanho, entre outras informações³⁰. A contagem de reticulócitos permite estabelecer se o processo é regenerativo, porém é essencial lembrar que a resposta medular em ruminantes acontece entre dois e quatro dias após o estímulo, apresentando o pico de resposta entre quatro e sete dias². Exames laboratoriais adicionais, além do hemograma devem ser realizados para elucidar a etiologia da anemia e assim, buscar o tratamento mais indicado.

ERITROCITOSE

A eritrocitose consiste na elevação do PCV acima dos valores de referência, e pode acontecer por hemoconcentração secundária a desidratação (relativa) ou por aumento verdadeiro na massa eritrocitária (absoluta). A eritrocitose relativa é a mais comum, e pode



ser identificada em associação com sinais clínicos de desidratação e elevação das PPTs e albumina². Após descartar esta causa, o diagnóstico de eritrocitose absoluta baseia-se em valores elevados dos diferentes parâmetros eritrocitários (PCV, contagem de eritrócitos, concentração de Hb), de maneira consistente, sem evidência clínica de desidratação e sem normalização após fluidoterapia.

No caso da eritrocitose absoluta, esta pode ser classificada como primária ou secundária⁷. A eritrocitose secundária se caracteriza pelo aumento na concentração de EPO em resposta a hipóxia, como ocorre, por exemplo, em doenças cardíacas e pulmonares, ou sem hipóxia sistêmica, em neoplasias renais que secretam o hormônio de maneira independente. Tem sido descrita a policitemia familiar em bovinos da raça Jersey, produto de um defeito recessivo em que os indivíduos apresentam concentrações elevadas de EPO sem uma origem estabelecida⁴². A eritrocitose primária cursa com níveis normais ou baixos de EPO e aumento na massa eritrocitária, independente do estímulo hormonal, indicando proliferação eritrocitária autônoma na medula óssea⁴³. Outrora, a eritrocitose primária era sinônimo da denominada Policitemia Vera, porém é um termo que implicaria no aumento de todas as linhagens celulares além dos eritrócitos (leucócitos e plaquetas) e, por isso, tem caído em desuso na medicina veterinária. Também, é uma condição extremamente incomum, com poucos relatos confirmados na literatura⁴³. O diagnóstico da eritrocitose absoluta é realizado correlacionando os resultados laboratoriais com achados clínicos secundários a hiperviscosidade do sangue, dispneia, taquicardia, taquipneia, intolerância ao exercício e membranas mucosas vermelha escuro a marrom⁴².



LEUCÓCITOS

São células fundamentais na resposta imune, e a sua quantificação fornece informações essenciais

para o diagnóstico e evolução de diferentes doenças. Os leucócitos são classificados em polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e mononucleares (linfócitos e monócitos). Os polimorfonucleares também podem ser denominados de granulócitos por possuírem grânulos no citoplasma. Todas as células têm a sua origem na medula óssea, e no caso dos linfócitos, há a maturação em outros tecidos linfóides tais como o baço e linfonodos^{1,44}.

No hemograma, os leucócitos são avaliados pela contagem total de células e a contagem diferencial, realizada no esfregaço sanguíneo corado, que também é fundamental para avaliar a morfologia e a presença de parasitas sanguíneos e outras alterações passíveis de significado clínico. No caso de amostras de ruminantes domésticos, as lesões de estoque (do tempo entre a coleta e a análise) e o tipo de anticoagulante podem levar a degeneração celular e contagens equivocadas por parte de contadores hematológicos automatizados².

Em comparação com as outras espécies, os ruminantes domésticos possuem um valor reduzido de leucócitos circulantes (em torno de 8.000/ μ L em ovinos)⁴⁴ e, devido a lenta mobilização de células tronco na medula óssea, a resposta do leucograma na inflamação possui baixos picos, sendo que 20.000 a 30.000/ μ L é considerada uma leucocitose extrema⁴⁵.

Ao contrário de cães e gatos, o tipo celular em maior número no leucograma é o linfócito seguido dos neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos. Bovinos e ovinos adultos possuem uma relação neutrófilo:linfócito (N:L) em torno de 0,5^{2,45}. Caprinos com três anos de idade, podem ter uma relação N:L igual a 1. Animais jovens (bezerros) possuem a quantidade superior de neutrófilos comparado com linfócitos até seis a oito semanas de idade²⁴. Em pequenos ruminantes, os neutrófilos dominam o perfil leucocitário até a terceira semana de idade⁴⁶. Os valores de leucócitos totais tendem a serem mais elevados em neonatos e vão reduzindo até um mês de idade¹. Essas variações na relação N:L em animais neonatos e jovens pode ter relação ao



estresse do nascimento e por esses motivos, os valores de referência devem ser específicos para cada faixa etária.

Ruminantes possuem uma menor reserva de neutrófilos na medula óssea. Sendo assim, em uma resposta inflamatória inicial, pode ser observada uma neutropenia transitória até a adaptação da medula óssea e o surgimento em seguida de neutrofilia com desvio a esquerda¹. A leucocitose pode acontecer de maneira fisiológica e transitória, em resposta a epinefrina, ou a estímulos que induzem liberação de cortisol endógeno, como dor, estresse, medo ou no parto. O leucograma neste caso, denominado leucograma de estresse, se caracteriza por neutrofilia e linfopenia, além de ocasional eosinopenia e monocitose^{1,45}. A leucocitose por neutrofilia, em situações patológicas, acontece por processos inflamatórios, com ou sem envolvimento infeccioso, neoplasias, intoxicações, alterações metabólicas e endócrinas, entre outras causas¹.

■ Neutrófilos

São as células que compõe a primeira linha de defesa contra patógenos e tem como função principal, migrar da circulação para o tecido afetado em duas horas a partir do início do insulto gerando fagocitose do material estranho ou bactéria. Os neutrófilos são produzidos na medula óssea no processo denominado de granulopoiese, que é estimulado por fatores teciduais e citocinas inflamatórias. Diferentemente das demais células hematopoiéticas, os neutrófilos maduros (segmentados) possuem uma área de reserva na medula óssea, denominado de compartimento de reserva. A função desse compartimento é atender a demanda de neutrófilos quando há um insulto inflamatório nos tecidos^{44,47}.

Resumidamente, a granulopoiese possui a etapa de multiplicação celular até a fase de mielócito e a partir daí, tem-se a maturação em metamielócito, neu-

trófilo bastonete e neutrófilo segmentado que irá se deslocar até a circulação e de lá para os tecidos. A meia vida dos neutrófilos segmentados circulantes é em média de doze horas e após a diapedese para o tecido, ele exerce a função de fagocitose ou entra em apoptose⁴⁷. A granulopoiese depende da demanda tecidual de neutrófilos, sendo que pode estar acelerada dependendo da gravidade e da natureza do processo inflamatório⁴⁴.

Nos animais ruminantes, a reserva de neutrófilos na medula óssea é menor e a mobilização neutrofílica é mais lenta quando comparadas a outras espécies⁴⁵. É por isso que em processos inflamatórios, nos quais há elevada demanda destas células, pode ocorrer uma neutropenia transitória (24 a 48 horas após o início do processo), até a ativação da granulopoiese, que acarreta por fim em neutrofilia e desvio a esquerda^{1,45}.

Morfologicamente, os neutrófilos de ruminantes (Figura 10) possuem citoplasma um pouco mais eosinofílico do que nas demais espécies¹⁶. Alterações tóxicas, que são modificações na morfologia neutrofílica, podem ser verificadas na inflamação aguda e na presença de agentes infecciosos.

Tais alterações podem ocorrer concomitantemente com a presença de neutrófilos imaturos (metamielócitos e bastonetes), denominada de desvio a esquerda⁴⁵. Por sua vez, o desvio à esquerda pode ser classificado como regenerativo ou degenerativo. O desvio a esquerda regenerativo é caracterizado pela presença de neutrófilos imaturos (mielócitos, metamielócitos e bastonetes) na circulação, porém em menor quantidade em comparado aos neutrófilos segmentados. No caso do degenerativo, a proporção de formas imaturas é superior a madura (neutrófilo segmentado). Na maioria das espécies, o desvio a esquerda regenerativo é associado a um prognóstico melhor do que o degenerativo. No entanto, em ruminantes, devido a lenta mobilização medular de neutrófilos para a inflamação, o desvio a esquerda degenerativo é considerado um bom prognóstico^{45,48} (Figura 11).

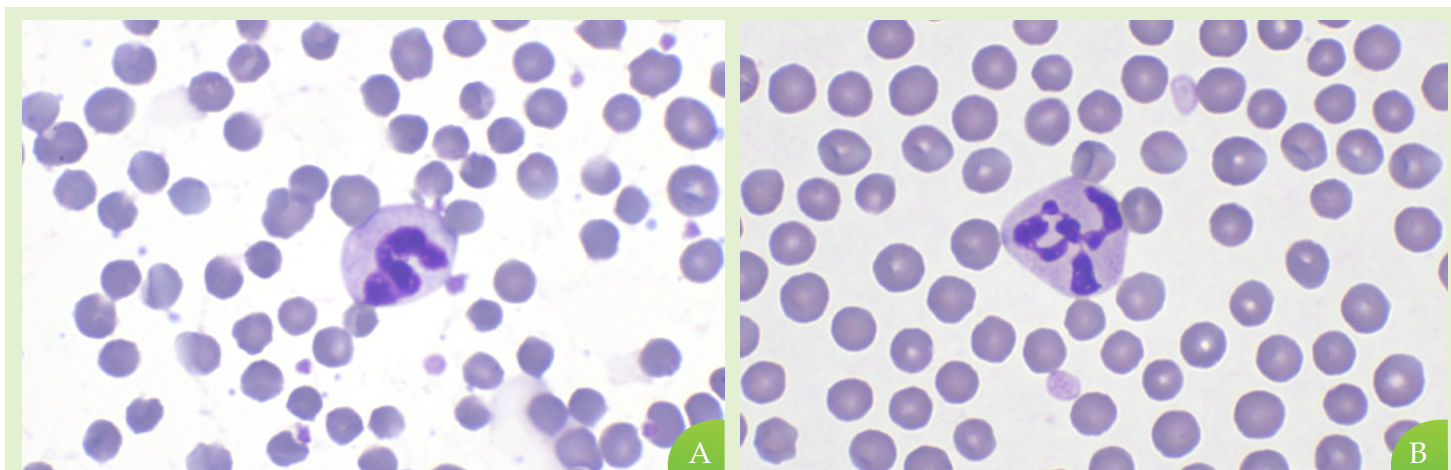


Figura 10. Fotomicrografia de neutrófilo segmentado (corante: Panótico Rápido, aumento de 100x em imersão). (A) Ovino e (B) bovino.

A neutrofilia em ruminantes é média a moderada na inflamação aguda e após o tempo para o surgimento da resposta neutrofílica da medula óssea, pode se tornar discretamente elevada ou com valores normais na inflamação crônica⁴⁵. A inflamação ocasionada por agentes virais, bacterianos, protozoários, parasitas e fungos pode ocasionar neutrofilia com ou sem leucocitose. Processos não sépticos tais como necrose, neoplasia e intoxicações além do estresse associado a deslocamento de abomaso, cetose e distocia podem contribuir para elevação no número de neutrófilos^{1,2,45}. A presença

de neutrófilos hipersegmentados (mais de cinco segmentos), caracteriza o desvio a direita. Tal observação é relatada em situações em que há a secreção de cortisol que impede a diapedese dos neutrófilos da circulação para os tecidos (Figura 11).

Além da inflamação hiperaguda, a neutropenia em ruminantes pode ser associada a inflamação grave e sepse em diversos sistemas, doenças virais (vírus da diarreia viral bovina - BVDV) e infecção por *Anaplasma phagocytophilum*. A neutropenia desaparece entre 48 horas, porém, se persistir por três a quatro dias indica

Desvio a direita = Neutrófilos hipersegmentados (+ de 5 segmentos)
 → *Neutrófilos maduros na circulação*

Desvio a esquerda = Neutrófilos não segmentados (imaturos)
 → *Bastonete, metamielócito e mielócitos*

Regenerativo
quantidade de neutrófilos maduros superior a imaturo

Degenerativo
quantidade de neutrófilos imaturos superior a maduro

Figura 11. Esquema das possíveis alterações hematológicas encontradas no leucograma.



uma supressão na granulopoiese ou a demanda é inadequada para a magnitude do processo inflamatório⁴⁵. A leucopenia devido a neutropenia e linfopenia pode estar presente na infecção por *A. phagocytophilum* (antigamente denominada de *Ehrlichia phagocytophila*)⁴⁹ em bovinos, ainda sem relato no Brasil. Já a infecção experimental por *Ehrlichia* spp., mais tarde denominada de *E. minasensis*⁵⁰, pode levar a neutropenia³⁹.

■ Linfócitos

Os linfócitos são os leucócitos predominantes no sangue de ruminantes domésticos com exceção de neonatos e bezerros até o primeiro semestre de vida, intervalo de tempo em que os neutrófilos são a população predominante²⁴. São células mononucleares que, de maneira geral, se dividem em linfócitos B, T e células Natural Killer (NK). Esta diferenciação populacional pode ser realizada unicamente com técnicas diagnósticas mais avançadas, como por exemplo citometria de fluxo, e não na avaliação microscópica^{44,51}.

No esfregaço de sangue de bovinos sadios é possível diferenciar três tipos de linfócitos, conforme o tamanho em pequenos, médios e grandes, enquanto nos pequenos ruminantes usualmente são observados

linfócitos pequenos e médios (Figura 12A). Os linfócitos médios e grandes, quando reativos (Figura 12B), podem exibir características atípicas que costumam ser associadas com malignidade em outras espécies².

As principais causas associadas a linfocitose são estimulação antigênica, seja pós vacinal ou crônica por processos infecciosos, hipoadrenocorticismismo ou neoplasia. Em bovinos especificamente, a linfocitose persistente pode ser uma manifestação subclínica da infecção por vírus da Leucose Enzoótica Bovina (VLB), que promove hiperplasia de linfócitos B⁵².

A linfopenia é observada por ação de glicocorticoides endógenos ou exógenos, infecção viral (principalmente por BVDV) ou bacteriana em fase aguda e endotoxemia, além de imunodeficiências, raramente descritas na literatura².

■ Eosinófilos

Os eosinófilos (Figura 13) são a segunda população de granulócitos mais frequentemente visualizados em hemogramas de ruminantes domésticos. As principais causas de eosinofilia compreendem hipersensibilidade, reações medicamentosas e infestação parasitária⁵². A eosinopenia é difícil de identificar

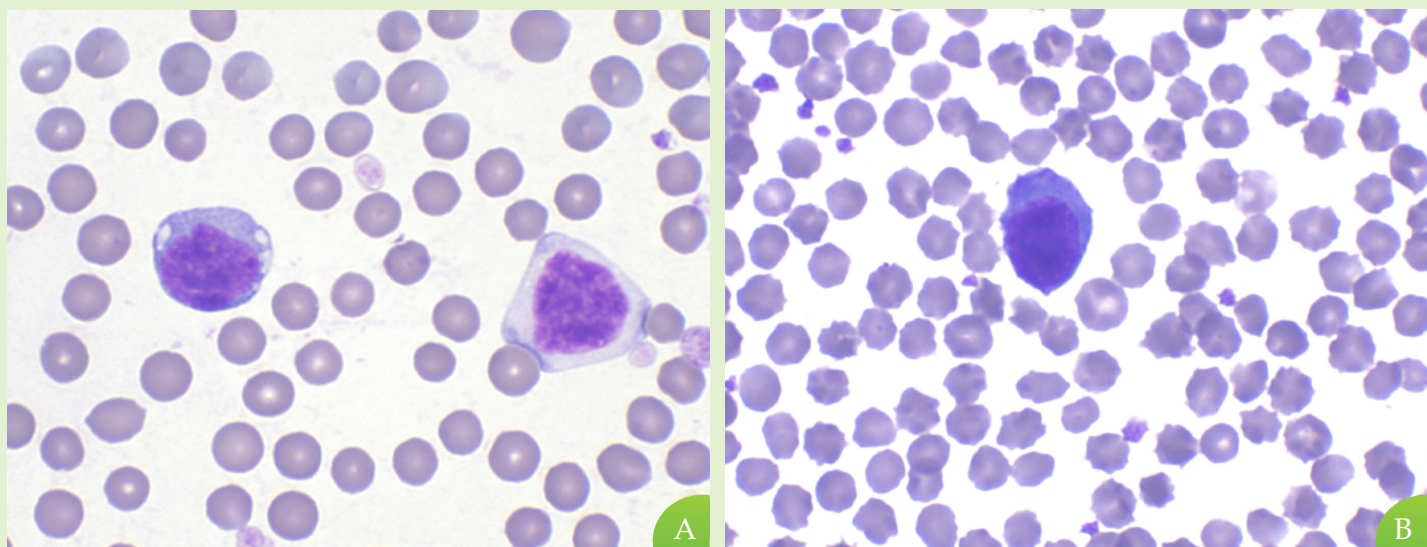


Figura 12. Fotomicrografia de linfócitos de ovino (corante: Panótico Rápido, aumento 100x em imersão). (A) Com vacuolização citoplasmática e (B) citoplasma basofílico com cromatina densa (animal com lesão cutânea extensa).



porque a quantidade de eosinófilos circulantes pode ser muito baixa em animais saudáveis, e quando presente, está associada a ação de glicocorticóides⁵¹.

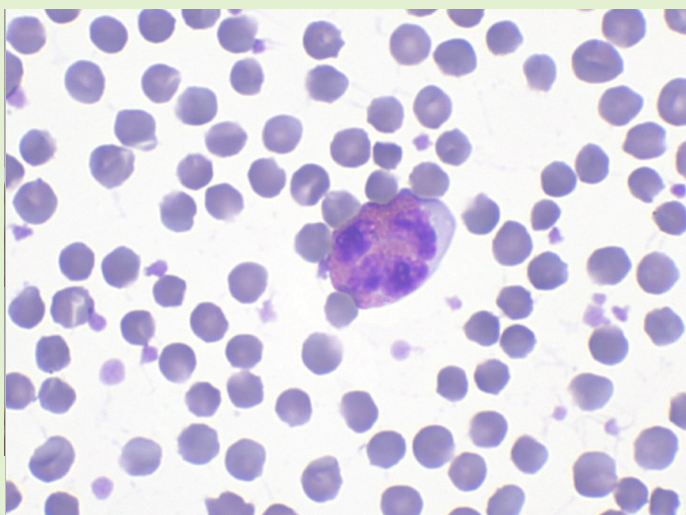


Figura 13. Fotomicrografia de eosinófilo ovino (corante Panótico Rápido, aumento 100x em imersão).

■ Monócitos

Os monócitos (Figura 14) na circulação migram para os tecidos para se tornar macrófagos e fagocitar microrganismos e debris celulares. A monocitose pode estar associada a processos inflamatórios crônicos, necrose, hemólise ou estresse, porém não é considerada um indicador sensível para ruminantes.

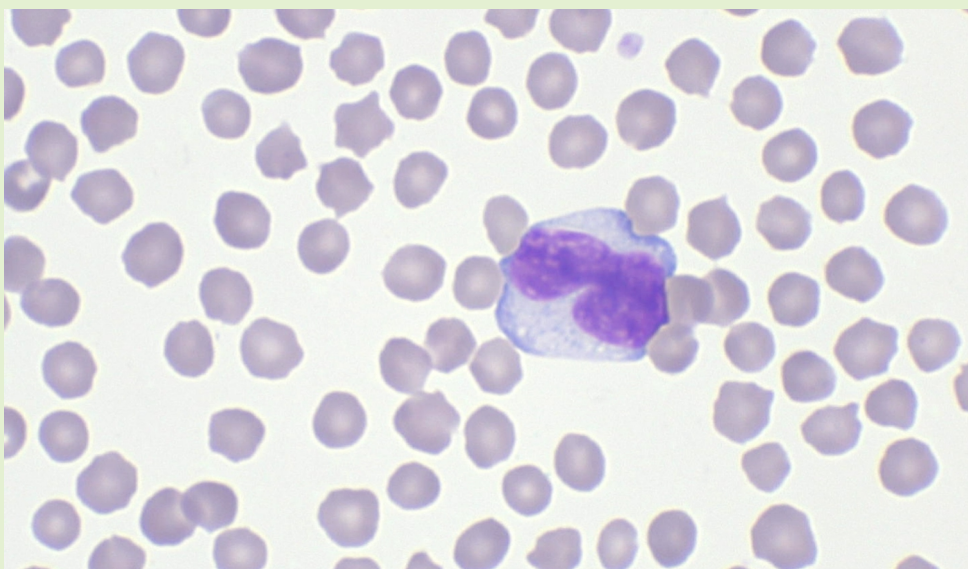


Figura 14. Fotomicrografia de monócito de ovino (corante Panótico Rápido, aumento 100x em imersão). tação da secção óssea em ângulo de 45°.

Redução no número de monócitos associa-se com viremia e endotoxemia². No esfregaço sanguíneo corado de animais infectados pela *E. minasensis*, a mórula pode ser observada no citoplasma dos monócitos entre 28 e 35 dias após a infecção³⁹.

■ Basófilos

A resposta dos basófilos é similar à descrita para os eosinófilos, podendo se observar basofilia em alergias e infestações parasitárias, embora seja pouco frequente. A basopenia não é frequentemente relatada porque o número de basófilos circulantes em animais sadios é normalmente baixo⁴⁵.

PLAQUETAS

As plaquetas são estruturas derivadas dos megacariócitos na medula óssea, e cumprem um papel essencial na hemostasia¹. Nos esfregaços sanguíneos, são menores que os eritrócitos (Figura 15A). Quando ativadas, as plaquetas se aderem ao local da lesão, impedindo ou mitigando a perda de sangue, secretam substâncias que favorecem a coagulação e reparação do tecido⁵³. Os ruminantes possuem plaquetas com menor volume do que outras espécies de mamíferos domésti-



cos, e apresentam valores superiores nas contagens plaquetárias⁵⁴. Assim como nas demais espécies, a coleta do sangue maneira inadequada pode ocasionar a presença de agregados plaquetários (Figura 15B), inviabilizando a contagem de plaquetas da amostra de sangue.

O aumento do número de plaquetas é denominado de trombocitose e pode ocorrer de maneira fisiológica, após contração esplênica derivada de estímulos adrenérgicos. De maneira secundária, pode acontecer em resposta a perda de sangue crônica, neoplasia, deficiência de Fe, inflamação ou estresse. A trombocitose de origem mieloproliferativa não é comum em ruminantes¹.

A trombocitopenia se refere a redução da contagem de plaquetas e pode ocorrer por consumo de plaquetas. Em processos infecciosos, ainda pode estar associada a injúria nas plaquetas ou nos vasos sanguíneos, como observado em casos de BVDV⁵⁵. No caso específico do BVDV tipo II, descreveu-se uma síndrome hemorrágica, caracterizada por alteração na função plaquetária nos bezerros, e degeneração, picnose e necrose de megacariócitos, ou pelo contrário, hiperplasia e maior proporção de megacariócitos

imaturos em animais adultos¹⁸. Em outros países, acidentes ofídicos têm sido documentados como causas de trombocitopenia acentuada em bovinos em pastejo, associando a gravidade da trombocitopenia a um pior prognóstico⁵⁶. Diferente do que é observado em outras espécies, a trombocitopenia imunomediada em bovinos é extremamente infrequente, havendo poucos relatos na literatura que comprovassem o diagnóstico desta condição⁵⁷. Como causas parasitárias de trombocitopenia, pode-se citar a infecção pela *E. minasensis*³⁹ e *A. phagocytophilum*⁴⁹.

Problemas de agregação plaquetária reduzida têm sido relatados em alguns bovinos da raça Simental. A condição não é frequente, e a dificuldade para sua reprodução experimental sugere que não seja uma condição associada a um gene recessivo, e sim, a mais de um gene envolvido⁵⁸.

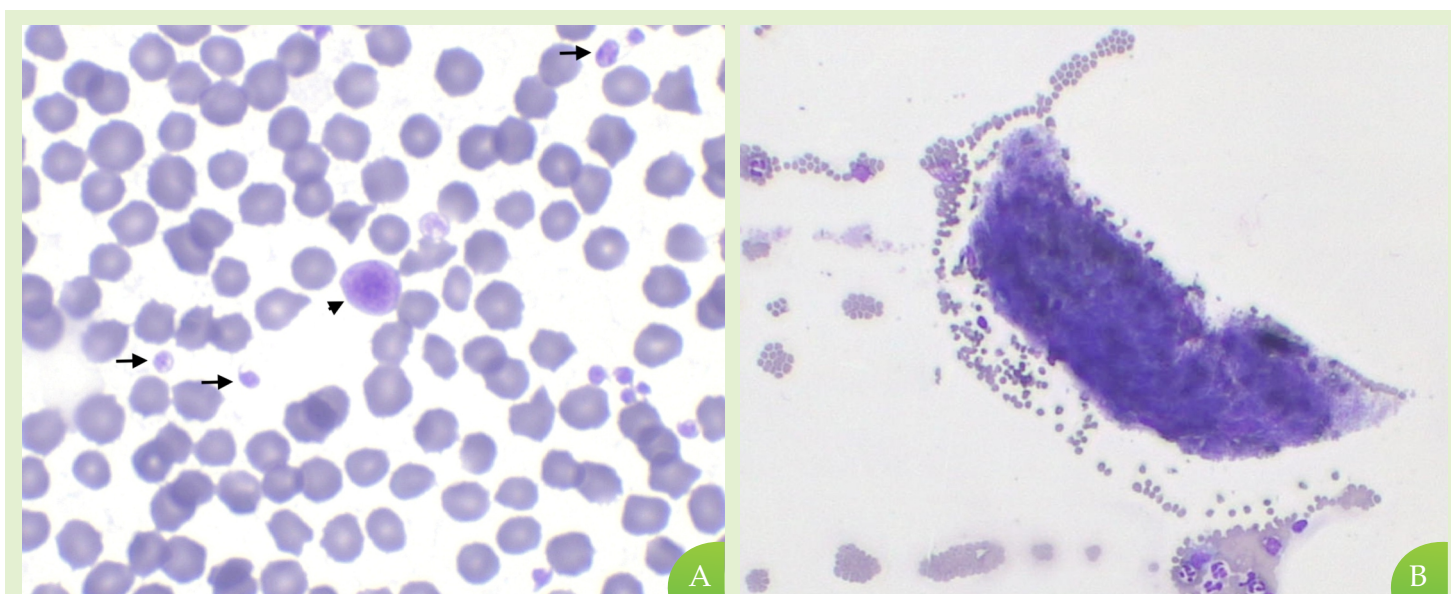


Figura 15. Fotomicrografia de esfregaço de sangue ovino (corante Panótico Rápido). (A) Plaquetas (seta) e macroplaqueta (cabeça de seta) (aumento de 100x em imersão). (B) Cauda de esfregaço demonstrando agregado plaquetário (aumento de 40x).



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o hemograma em ruminantes é uma excelente ferramenta para avaliação das condições sanitárias de animais individuais ou em rebanho. No entanto, as práticas analíticas e a interpretação do exame devem considerar as particularidades das espécies de ruminantes domésticos.

REFERÊNCIAS

1. ROLAND, L. et al. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.26, n.5, p.592-598, 2014.
2. JONES, M.L.; ALLISON, R.W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.23, n.3, p.377-402, 2007.
3. ALLISON, R.W.; MEINKOTH, J.H. Hematology without the numbers: in-clinic blood film evaluation. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.37, n.2, p.245-266, 2007.
4. BERNARDO, F.D. et al. Importance of blood smear in the distinction of hemoparasites: a case report of anaplasmosis. *Brazilian Journal of Hygiene and Animal Sanity*, v.10, n.2, p.290-296, 2016.
5. OIKONOMIDIS I.L. et al. A comparison study between the results of the Siemens Advia 120 analyzer and the manual method for differential leukocyte counts in sheep. *Veterinary Clinical Pathology Journal*, v.50, n.2, p.203-208, 2021.
6. TSIAMADIS, V. et al. Hematology reference intervals during the prepartum period, first week after calving, and peak lactation in clinically healthy Holstein cows. *Veterinary Clinical Pathology Journal*, v.51, n.1, p.134-145, 2022.
7. HARVEY, J.W. Evaluation of erythrocytes. In: HARVEY, J.W. *Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas*. 2ªed. Missouri: Elsevier Saunders, 2012, p.49-121.
8. ROCHA T.B. et al. Hematology and biochemistry of buffalo (*Bubalus bubalis*): influence of sex and age on reference values. *Tropical Animal Health and Production*, v.53, n.2, p.273, 2021.
9. PUGH, D.G.; BAIRD, A.N. *Sheep and Goat Medicine*. 2ªed. Missouri: Elsevier Saunders, 2012, 640p.
10. BENSON, C.J.; OVERMANN, J.A. Collection and submission of samples for hematologic and cytologic evaluation. In: SMITH, B.P. *Large Animal Internal medicine*. 5ªed. Missouri: Elsevier Saunders, 2015. p.374-375.
11. CEBRA, C.; CEBRA, M. Diseases of the hematologic immunologic, and lymphatic systems (multisystem diseases). In: PUGH, D.G.; BAIRD, A.N. *Sheep and Goat Medicine*. 2ªed. Missouri: Elsevier Saunders, 2012. p.466.
12. FALCONER, G.J.; CHAPMAN, P.N. An evaluation of five commonly used anticoagulants, in relation to the accuracy of haematological tests for bovine, ovine, equine and canine blood. *New Zealand Veteri-*



nary Journal, v.25, n.4, p.86-89, 1977.

13. WARREN, A.L. et al. Storage-associated changes in the bovine hemogram with the ADVIA 120 hematology analyzer. *Comparative Clinical Pathology*, v.22, n.6, p.1235-1240, 2012.

14. IHEDIOHA, J.I.; ONWUBUCHE, R.C. Artifactual changes in PCV, hemoglobin concentration and cell count in bovine, caprine, and porcine blood stored at room and refrigerator temperatures. *Veterinary Clinical Pathology*, v.36, n.1, p.60, 2007.

15. RODAK, B.F. et al. Hematology: Clinical Principles and Applications. 4^{ed}. St. Louis: Elsevier Saunders, 2012, 880p.

16. WOOD, D.; QUIROZ-ROCHA, G.F. Normal hematology of cattle. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6^{ed}. Iowa: Wiley, 2010. p.829-835.

17. JAIN, N.C.; KONO, C.S. Fusiform erythrocytes resembling sickle cells in Angora goats: light and electron microscopic observations. *Research Veterinary Science*, v.22, n.2, p.169-80, 1977.

18. BOES, K.M.; DURHAM, A.C. Bone marrow, blood cells, and the lymphoid/lymphatic system. In: ZACHARY, J.E. Pathologic Basis of Veterinary Disease. 6^{ed}. Missouri: Elsevier Saunders, 2007. p. 724-804.

19. OLIVER, C.S. et al. Erythrocyte structure and function. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6^{ed}. Iowa: Wiley, 2010. p.123-130.

20. YEO, J.M. et al. Cellular dynamics of mammalian

red blood cell production in the erythroblastic island niche. *Biophysical reviews*, v.11, n.6, p.873-894, 2019.

21. FOLEY, R.N. Erythropoietin: physiology and molecular mechanisms. *Heart Failure Reviews*, v.13, n.4, p.405-414, 2008.

22. JOHNS, J.; HELLER, M. Hematologic conditions of small ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.37, n.1, p.183-197, 2021.

23. KNOWLES, T.G. et al. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Veterinary Record*, v.147, n.21, p.593-598, 2000.

24. BRUN-HANSEN, H.C. et al. Hematologic values in calves during the first 6 months of life. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, v.35, n.2, p.182-187, 2006.

25. LACVET/UFRGS. Confecção do esfregaço sangüíneo ideal. www.ufrgs.br/lacvet/esfregaco.html.

26. BARGER, A.M. Erythrocyte morphology. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6^{ed}. Iowa: Wiley, 2010. p.829-835.

27. SHARKEY, L.C.; OVERMANN, J.A. Alterations in the erythron. In: SMITH, B.P. Large Animal Internal Medicine. 5^{ed}. Missouri: Elsevier Saunders, 2015. p.376-380.

28. NASSIRI, S.M. et al. Bovine immune-mediated hemolytic anemia: 13 cases (November 2008-August 2009). *Veterinary Clinical Pathology*, v.40, n.4, p.459-466, 2011.

29. MCGILLIVRAY, S.R. et al. Serum iron, total iron binding capacity, plasma copper and hemoglobin types



in anemic and poikilocytotic calves. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, v.49, n.3, p.286-290, 1985.

30. KATSOGIANNOU, E. et al. Diagnostic approach of anemia in ruminants. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, v.69, n.3, p.1033-1046, 2018.

31. TVEDTEN, H. Laboratory and clinical diagnosis of anemia. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6ªed. Iowa: Wiley, 2010. p.152-161.

32. ZAJAC, A.M.; GARZA, J. Biology, epidemiology and control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.36, n.1, p.73-87, 2020.

33. ALLISON, R.W.; MEINKOTH, J.H. Anemia caused by Rickettsia, Mycoplasma and Protozoa. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6ªed. Iowa: Wiley, 2010. p.199-210.

34. NEWCOMER, B.W. et al. Diseases of the hematologic, immunologic and lymphatic systems (multisystem diseases). In: Pugh, D. et al. Sheep, Goat and Cervid Medicine. 3ªed. Missouri: Elsevier Saunders, 2021. p.405-438.

35. RUBY, R.E. et al. Bovine colostrum-induced anaemia in a 2-week-old lamb. *New Zealand Veterinary Journal*, v.60, n.1, p.82-83, 2012.

36. FRY, M.M. Anemia of inflammatory, neoplastic, renal and endocrine diseases. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6ªed. Iowa: Wiley, 2010. p.246-250.

37. HARVEY, J.W. Iron metabolism and its disorders. In: KANEKO, J.J. et al. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6ªed. Massachusetts: Elsevier

Saunders, 2008. p.259-285.

38. PEREZ-ALENSA, M.D. et al. Clinico-pathological findings in cattle exposed to chronic bracken fern toxicity. *New Zealand Veterinary Journal*, v.54, n.4, p.185-192, 2006.

39. AGUIAR, D.M. et al. A novel *Ehrlichia* genotype strain distinguished by the TRP36 gene naturally infects cattle in Brazil and causes clinical manifestations associated with ehrlichiosis. *Ticks and Tick-borne Diseases*, v.5, n.5, p.537-544, 2014.

40. VILELA, V.L.R. et al. FAMACHA® method as an auxiliary strategy in the control of gastrointestinal helminthiasis of dairy goats under semiarid conditions of Northeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.190, n.1-2, p.281-284, 2012.

41. MOORS, E.; GAULY, M. Is the FAMACHA® chart suitable for every breed? Correlations between FAMACHA® scores and different traits of mucosa colour in naturally parasite infected sheep breeds. *Veterinary Parasitology*, v.166, n.1-2, p.108-111, 2009.

42. PEEK, S.F.; MCGUIRK, S.M. Cardiovascular diseases. In: DIVERS, T.J. Rebhun's Diseases of Dairy Cattle. 2ªed. Missouri: Elsevier Saunders, 2008. p.43-78.

43. TAKAGI, M. et al. Primary erythrocytosis in a Japanese black calf: a case report. *Journal of Veterinary Medicine A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, v.53, n.6, p.296-299, 2006.

44. HARVEY, J.W. Evaluation of leukocytic disorders. In: HARVEY, J.W. Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas. 2ªed. Missouri: Missouri: Elsevier Saunders, 2012. p.122-176.



45. TORNQUIST, S.J.; RIGAS, J. Interpretation of ruminant leukocyte responses. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6^aed. Iowa: Wiley, 2010. p.307-313.
46. BYERS, S.R.; KRAMER, J.W. Normal hematology of sheep and goats. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6^aed. Iowa: Wiley, 2010. p.836-842.
47. WEISS, D.J. Neutrophil distribution and function. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6^aed. Iowa: Wiley, 2010. p.268-274.
48. BRAUN, U. et al. Hematological findings in 158 cows with acute toxic mastitis with a focus on the leukogram. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.63, n.11, p.1-11, 2021.
49. PUSTERLA, N. et al. Laboratory findings in cow after experimental infection with *Ehrlichia phagocytophila*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, v.4, n.6, p.643-647, 1997.
50. CRUZ, A.C. et al. New species of *Ehrlichia* isolated from *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* shows an ortholog of the *E. canis* major immunogenic glycoprotein gp36 with a new sequence of tandem repeats. *Parasites & Vectors*, v.11, n.5, p.291, 2012.
51. SHARKEY, L.C.; OVERMANN, J.A. Alterations in the leukogram. In: SMITH, B.P. Large Animal Internal Medicine. 5^aed. Missouri: Elsevier Saunders, 2015. p.381-386.
52. WEBB, J.L.; LATIMER, K.S. Leukocytes. In: LATIMER, K.S. Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology. 5^aed. West Sussex: Wiley-Blackwell, 2011. p.45-82.
53. SMITH, S.A. Overview of hemostasis. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6^aed. Iowa: Wiley, 2010. p.635-707.
54. BOUDREAUX, M.K.; EBBE, S. Comparison of platelet number, mean platelet volume and platelet mass in five mammalian species. *Comparative Haematology International*, v.8, n.1, p.16-20, 1998.
55. REBHUN, W.C. et al. Thrombocytopenia associated with acute bovine diarrhea infection in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.3, n.1, p.42-46, 1989.
56. BHIKANE, A.U. et al. Clinical, hematological and pathological findings and therapeutic management of viperine snake envenomation in zebu cattle. *Tropical Animal Health and Production*, v.52, n.6, p.3425-3437, 2020.
57. YASUDA, J. et al. Idiopathic thrombocytopenia in Japanese Black cattle. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.64, n.1, p.87-89, 2002.
58. MAPLETOFT, R.J. et al. A study of the inheritance of a bleeding disorder in Simmental cattle. *Canadian Veterinary Journal*, v.41, n.10, p.791-793, 2000.