



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Residência Multiprofissional e em
Área Profissional da Saúde – COREMU**

**PROGRAMA DE RESIDÊNCIA
MULTIPROFISSIONAL E EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE**

PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA

**PARÂMETROS ERITROCITÁRIOS DE RELEVÂNCIA CLÍNICA NAS
ANEMIAS DE CANINOS ATENDIDOS NO HCV-UFPel.**

Anelise Borgartz

Pelotas, RS, Brasil

2014

Anelise Borgartz

Parâmetros Eritrocitários de Relevância Clínica nas Anemias de Caninos Atendidos no HCV - UFPel

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Especialista em Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 17/01/2014

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Carmem Lucia Garcez Ribeiro (Orientador).
Doutora em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Cristiano Silva da Rosa
Mestre em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Raquel Teresinha França
Mestre em Clínica Médica pela Universidade Federal de Santa Maria

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	vii
RESUMO	xiii
1.0 INTRODUÇÃO.....	9
2.0 RELATÓRIO DE CASUÍSTICA	11
2.1 HEMOGRAMA	13
2.2 BIOQUÍMICOS	15
2.3 EXAME QUALITATIVO DE URINA	15
2.4 EXAME PARASITOLÓGICO	17
2.5 EFUSÕES	18
2.6 CITOLOGIA.....	19
2.7 TESTES DE COMPATIBILIDADE	22
3.0 ARTIGO SEGUNDO AS NORMAS DA REVISTA CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA.....	23
4.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
5.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
6.0 ANEXOS	37

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - EXAMES LABORATORIAIS REALIZADOS PELO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA DE ACORDO COM A ESPÉCIE E O TIPO DE EXAME SOLICITADO.....	13
TABELA 2 - EXAMES HEMATOLÓGICOS REALIZADOS DE ACORDO COM A ESPÉCIE E A CATEGORIA DE EXAME.....	15
TABELA 3 - DESCRIÇÃO DA CASUÍSTICA DE EXAMES BIOQUÍMICOS REALIZADOS, DE ACORDO COM A ESPÉCIE E COM O TIPO ENZIMÁTICO E SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS	15
TABELA 4 - DESCRIÇÃO DA CASUÍSTICA DE EXAMES PARASITOLÓGICOS DE ACORDO COM O TIPO DE EXAME E A ESPÉCIE.....	17
TABELA 5 - CLASSIFICAÇÃO DOS TIPOS DE EXAMES CITOLÓGICOS DE ACORDO COM A ESPÉCIE.....	19
TABELA 6 - DESCRIÇÃO DOS DIAGNÓSTICOS DE CITOLOGIA REALIZADO NO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA (HCV - UFPEL).....	21
TABELA 7 -VARIÁVEIS DESCRIPTAS PELA MÉDIA E DESVIO PADRÃO COMPARADAS PELO TESTE T DE STUDENT PARA OS PARÂMETROS ERITROCITÁRIOS/ÍNDICES HEMATIMÉTRICOS E RETICULOCITÁRIOS DE CÃES ANÊMICOS E NÃO ANÊMICOS	29
TABELA 8 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE ALGUNS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DO GRUPO DE PACIENTES ANÊMICOS.	30
TABELA 9 - ESTATÍSTICA DESCRIPTIVA DOS VALORES DE RDW (%) DO TOTAL DE ANIMAIS AVALIADOS (ANÊMICOS E CONTROLE) DE ACORDO COM A ANISOCITOSE.....	31
TABELA 10 - CLASSIFICAÇÃO DA ANISOCITOSE DE ACORDO COM O VALOR DE RDW.....	31
TABELA 11 - ESTATÍSTICA DESCRIPTIVA DA CONTAGEM ABSOLUTA DE RETICULÓCITOS / μ L DO TOTAL (N=200) DE ANIMAIS AVALIADOS (ANÊMICOS E CONTROLE) DE ACORDO COM A POLICROMASIA (+).	32
TABELA 12 - ESTATÍSTICA DESCRIPTIVA DO ÍNDICE DE PRODUÇÃO DE RETICULÓCITOS (IPR) DO TOTAL (N=200) DE ANIMAIS AVALIADOS (ANÊMICOS E CONTROLE) DE ACORDO COM A POLICROMASIA (+).	32

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA. EM A PODE-SE OBSERVAR A SALA DE HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA COM AS AUTOMAÇÕES E MICROSCÓPIOS. EM B OBSERVA-SE A SALA COM TODAS AS CENTRÍFUGAS UTILIZADAS E MATERIAL DE CONSUMO ARMAZENADO. FONTE: ARQUIVO PESSOAL.....	10
FIGURA 2 - AUTOMAÇÃO DE HEMATOLOGIA, SYSMEX®, MODELO POCH-100IV DIFF. FONTE: ARQUIVO PESSOAL.....	10
FIGURA 3 - AUTOMAÇÃO DE BIOQUÍMICA, DA MARCA ROCHE® MODELO COBAS C111. FONTE: ARQUIVO PESSOAL.....	11
FIGURA 4 - GRÁFICO QUE ILUSTRA A QUANTIDADE DE EXAMES REALIZADOS NO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA DE ACORDO COM A ESPÉCIE.	12
FIGURA 5 - PERCENTUAL DAS ANÁLISES CLÍNICAS REALIZADAS DE ACORDO COM A CATEGORIA.	12
FIGURA 6 - PRESENÇA DE CORPÚSCULO DE LENTZ EM LINFÓCITO. NOTA-SE UMA INCLUSÃO ROSA NO CITOPLASMA DO LINFÓCITO (SETA). FONTE: ARQUIVO PESSOAL.....	14
FIGURA 7 - LEITURA DOS NÍVEIS DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS TOTAIS PARA DOSAGEM DE FIBRINOGÊNIO, ATRAVÉS DA TÉCNICA DE REFRAATÔMETRIA. FONTE: ARQUIVO PESSOAL.	14
FIGURA 8 - EXAMES QUALITATIVOS DE URINA REALIZADOS NO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA DE ACORDO COM A ESPÉCIE.....	16
FIGURA 9 - ALTERAÇÕES ENCONTRADAS NO SEDIMENTO URINÁRIO. EM A, NOTA-SE A PRESENÇA DE CRISTais DE ESTRUvITA NA URINA DE UM CÃO. EM B OBSERVA-SE A PRESENÇA DE UM OVO DE <i>DIOCTOPHYMA RENALE</i> NA URINA DE UM FURÃO (<i>MUSTELA PUTORIUS FURO</i>). FONTE: ARQUIVO PESSOAL.....	17
FIGURA 10- PRESENÇA DE ÁCAROS DE <i>DEMODEX CANIS</i> EM RASPADO CUTÂNEO DE CÃO. FONTE: ARQUIVO PESSOAL.....	18
FIGURA 11 - IMAGEM DA CITOCENTRÍFUGA DO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA (HCV-UFPEL). FOTO: ARQUIVO PESSOAL.....	19
FIGURA 12 - EXEMPLO DE EXAME BACTERIOSCÓPICO REALIZADO NA URINA DE UM CÃO. PODE-SE OBSERVAR PRESENÇA DE INÚMEROS BACILOS (SETA). FOTO: ARQUIVO PESSOAL.....	20

FIGURA 13 - PESQUISA DE LEVEDURA ATRAVÉS DO EXAME DIRETO. OBSERVA-SE A PRESENÇA DE INÚMERAS LEVEDURAS SUGESTIVAS DE <i>SPOROTHRIX SP.</i> FOTO: ARQUIVO PESSOAL.....	20
FIGURA 14 - CITOLÓGICO DE TVT. OBSERVA-SE A PRESENÇA DE INÚMERAS CÉLULAS REDONDAS, QUE APRESENTAM CITOPLASMA AZUL CLARO E VACUOLIZAÇÃO CITOPLASMÁTICA, CROMATINA NUCLEAR FROUXA, NUCLÉOLOS EVIDENTES E FIGURA DE MITOSE. FOTO: ARQUIVO PESSOAL.....	21
FIGURA 15 - RESULTADO DO TESTE DE COMPATIBILIDADE DE UM CANINO. EM A PODE-SE VER AGLUTINAÇÃO DAS HEMÁCIAS. EM B PODE-SE VER HEMÁCIAS DISPERSAS.	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ALT – Alanina aminotransferase
AST – Aspartato aminotransferase
CCE – Carcinoma de Células Escamosas
CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
DAAP – Dermatite Alérgica a Picada de Pulga
E.Q.U – Exame Qualitativo de Urina
FA – Fosfatase Alcalina
IRA – Insuficiência Renal Aguda
IRC – Insuficiência Renal Crônica
OSH – Ovariosalpingohisterectomia
PPT – Proteínas Plasmáticas Totais
RDW - *Red Cell Distribution Width*
TVT – Tumor Venéreo Transmissível
UFPEL – Universidade Federal de Pelotas
VCM – Volume Corpuscular Médio

RESUMO

A Residência multiprofissional foi realizada na área de Patologia Clínica Veterinária, sendo o cenário de atuação o Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (HCV/UFPel), sob a preceptoria das professoras Carmen Lucia Garcez Ribeiro, Ana Raquel Mano Meinerz e Luiz Fernando Jantzen Gaspar e também do bioquímico/farmacêutico Luiz Eduardo Barcellos Krause. O período de residência foi de 15 de março de 2012 a 28 de fevereiro de 2014, sendo este período dividido entre R1 (primeiro ano) e R2 (segundo ano). As atividades desenvolvidas durante a residência incluíram a realização dos exames laboratoriais no Laboratório de Patologia Clínica, advindos do próprio HCV/UFPel e de veterinários da cidade de Pelotas. No período de dois anos, foram realizados 31.398 exames, sendo a maior casuística na espécie equina (12.824) e na espécie canina (12.584). Além disso, também foi realizado no período de R2 um projeto intitulado “Parâmetros Eritrocitários de Relevância Clínica nas anemias de caninos atendidos no HCV – UFPEL.

Palavras-chave: Residência, Hemograma, RDW, cães.

1.0 INTRODUÇÃO

A residência multiprofissional foi realizada no período compreendido entre 15 de março de 2013 à 28 de fevereiro de 2014 na área de patologia clínica veterinária, sob orientação dos preceptores: Drª Carmen Lucia Garcez Ribeiro, Drª Ana Raquel Mano Meinerz, Msc. Luis Eduardo Barcellos Krause e Dr. Luiz Fernando Jantzen Gaspar.

A elaboração e execução do projeto de residência é uma exigência do Programa Multiprofissional em área para finalizar este período. O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, localizado no campus Capão do Leão da UFPEL, no município do Capão do Leão – RS. O setor realiza exames laboratoriais como hemograma, bioquímica sérica, urinálise, análise de derrames cavitários, exame parasitológico de tegumento cutâneo além de exames citológicos de amostras colhidas através de biópsia por aspiração.

O Laboratório de Análises Clínicas presta serviços para o hospital veterinário e também para veterinários particulares da região, além de auxiliar na execução de projetos de ensino, pesquisa e extensão desenvolvidos na instituição. Nos recursos humanos, o laboratório conta com duas professoras da área de patologia clínica, a Drª Carmen Lucia Garcez Ribeiro e a Drª Ana Raquel Mano Meinerz, além de um farmacêutico/bioquímico o Msc Luis Eduardo Barcellos Krause, uma técnica de laboratório, a Msc Luciana Aquini Fernandes Gil e uma auxiliar de laboratório Lenir Hellwing, além de dois residentes e estagiários do curso de Medicina Veterinária.

O laboratório conta com duas salas, sendo uma usada para equipamentos de hematologia, bioquímica e microscopia, e outra sala destinada a centrifugação, equipada com centrifugas e equipamentos diversos. (figura 1). O equipamento de hematologia é uma automação veterinária, da marca Sysmex® modelo poch – 100iv Diff (figura 2). O equipamento realiza atualmente: hemograma (eritrograma completo e leucograma) de seis espécies (caninos, felinos, bovinos, ovinos, equinos e ratos), e permite que mais espécies animais sejam adicionadas. O aparelho de bioquímica é uma automação da marca Roche®, modelo Cobas C111 (figura 3) e atualmente é

utilizado para as dosagens de: alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), ureia, creatinina, albumina e fosfatase alcalina (FA).



Figura 1 - Laboratório de patologia clínica. Em A pode-se observar a sala de hematologia e bioquímica com as automações e microscópios. Em B observa-se a sala com todas as centrífugas utilizadas e material de consumo armazenado. Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 2 - Automação de hematologia, Sysmex®, modelo poch-100iv Diff. Fonte: arquivo pessoal.



Figura 3 - Automação de bioquímica, da marca Roche® modelo Cobas c111. Fonte: Arquivo pessoal.

O período determinado para a residência é de 24 meses, sendo esses divididos em R1 e R2. Durante o primeiro ano, o laboratório ainda não estava com o aparelho de bioquímica funcionando, por isso, o residente participou da rotina dos outros exames realizados pelo laboratório, com ênfase na hematologia. Durante o segundo ano de residência, o residente participou da rotina de bioquímica e acompanhou alguns casos de citologia por PAAF (punção aspirativa por agulha fina), além de todos os outros exames realizados no laboratório. O residente também desenvolveu, durante o segundo ano, um projeto de pesquisa intitulado de “Parâmetros Eritrocitários de relevância clínica nas anemias de caninos atendidos no HCV-UFPEL”.

2.0 RELATÓRIO DE CASUÍSTICA

Foram realizados um total de 31.398 exames durante o período de março de 2012 a novembro de 2013, sendo 12.824 exames na espécie equina, 12.584 na espécie canina e o restante dos exames nas demais espécies apresentadas na figura 4.

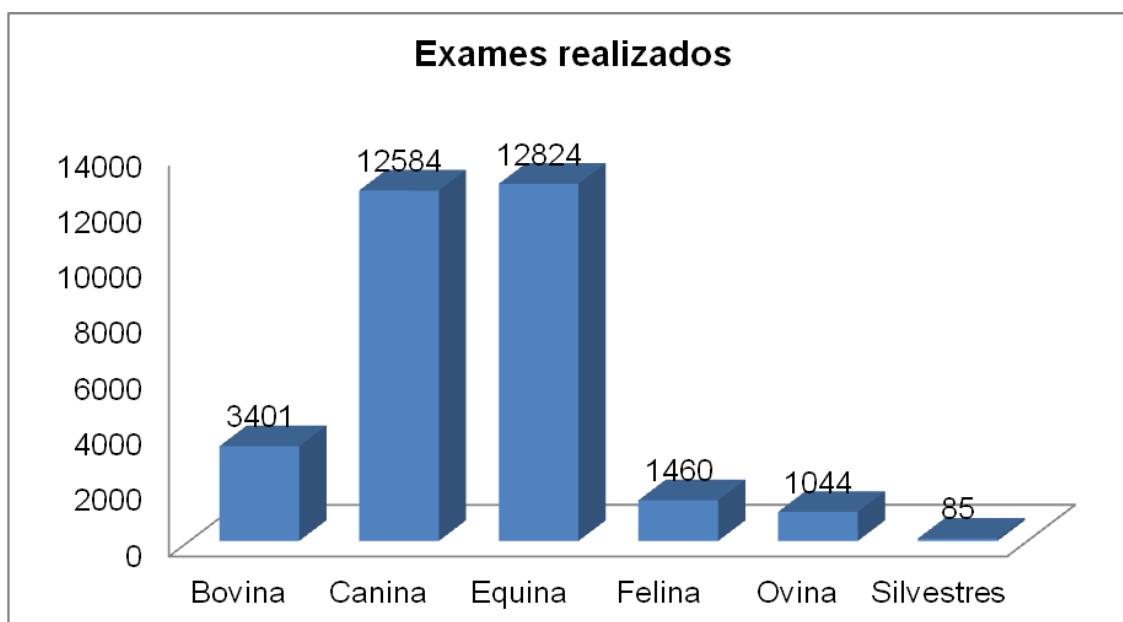


Figura 4 - Gráfico que ilustra a quantidade de exames realizados no laboratório de patologia clínica de acordo com a espécie.

O total de exames (31.398) foi dividido nas categorias: citológico, exame qualitativo de urina (E.Q.U), efusão, hemograma, parasitológico, teste de compatibilidade sanguínea e bioquímicos. A maior casuística foi de hemogramas 95% (29.760) seguido pelos exames bioquímicos 10% (915) conforme figura 5. A espécie canina foi a que mais apresentou diversidade em tipos de exame, de acordo com a tabela 1.

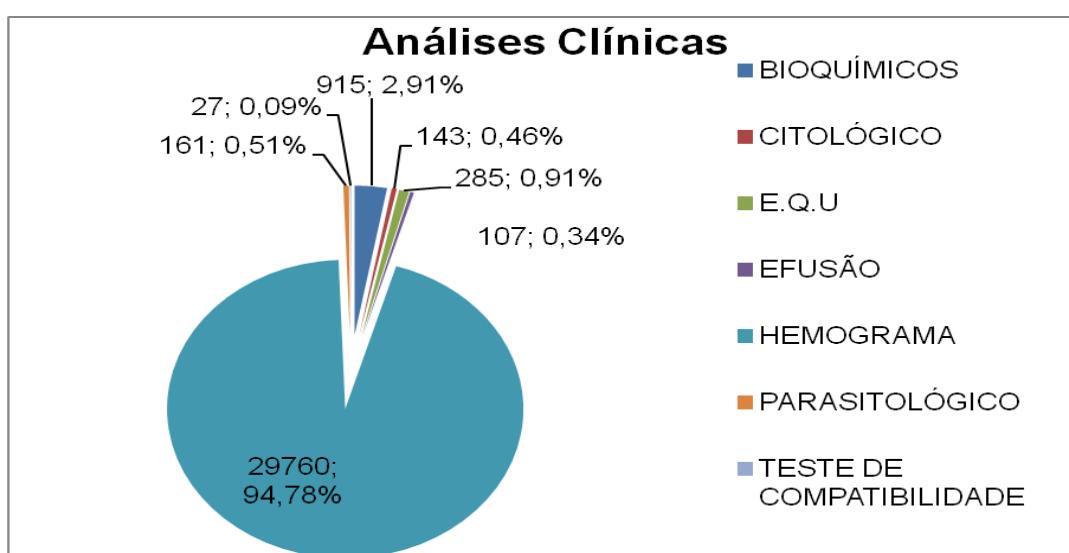


Figura 5 - Percentual das análises clínicas realizadas de acordo com a categoria.

Tabela 1 - Exames laboratoriais realizados pelo laboratório de patologia clínica de acordo com a espécie e o tipo de exame solicitado.

Análises	Bovina	Canina	Equina	Felina	Ovina	Silvestres	Total
Bioquímicos	-	830	0	85	-	-	915
Citológico	-	115	2	26	-	-	143
E.Q.U	1	210	4	65	4	1	285
Efusão	1	56	49	1	-	-	107
Fibrinogênio	849	2790	3190	316	260	21	7426
Hemograma	852	2830	3199	320	260	21	7482
Parasitológico	-	151	-	10	-	-	161
Plaquetas	849	2790	3190	316	260	21	7426
PPT	849	2790	3190	316	260	21	7426
Teste de compatibilidade	-	22	-	5	-	-	27
TOTAL	3401	12584	12824	1460	1044	85	31398

2.1 HEMOGRAMA

O hemograma consiste no eritrograma e leucograma, entretanto, a dosagem de proteínas plasmáticas totais (PPT) e fibrinogênio além da contagem de plaquetas foram classificadas juntamente com o hemograma, pois mesmo quando não eram solicitadas, essas análises eram realizadas em todas as amostras a fim de fornecer dados para estudos científicos desenvolvidos no laboratório.

As pesquisas de hemoparasitas e de corpúsculos de Lentz também foram incluídas junto com os hemogramas, pois eram feitas a partir da mesma amostra. O equipamento automático de hematologia veterinária (Sysmex®, poch-100iv Diff) realiza a contagem de leucócitos totais e o eritrograma completo o qual consiste em contagem de hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e contagem de plaquetas. O diferencial leucocitário era realizado através da análise microscópica de 100 células em esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (Newprov®). No mesmo esfregaço eram avaliadas a morfologia das hemácias e dos leucócitos, a pesquisa de hemoparasitas ou presença de inclusões como corpúsculos de Lentz (figura 6). A dosagem de proteínas plasmáticas totais foi realizada através da refratometria (figura 7), e a dosagem de fibrinogênio era determinada pelo

método de precipitação pelo calor com posterior leitura em refratômetro (KANEKO e SMITH, 1967).

Em relação à casuística, a espécie que apresentou o maior número de hemogramas foi a espécie equina, entretanto a espécie canina teve maior diversidade de exames solicitados, conforme descreve a tabela 2. Entre os animais silvestres estão incluídos: macaco prego (*Cebus apela*) bugio (*Alouatta sp.*), veado (*Mazama sp.*), furão (*Mustela putorius furo*) e lontra (*Pteronura brasiliensis*).



Figura 6 - Presença de corpúsculo de Lentz em linfócito. Nota-se uma inclusão rosa no citoplasma do linfócito (seta). Fonte: Arquivo pessoal.

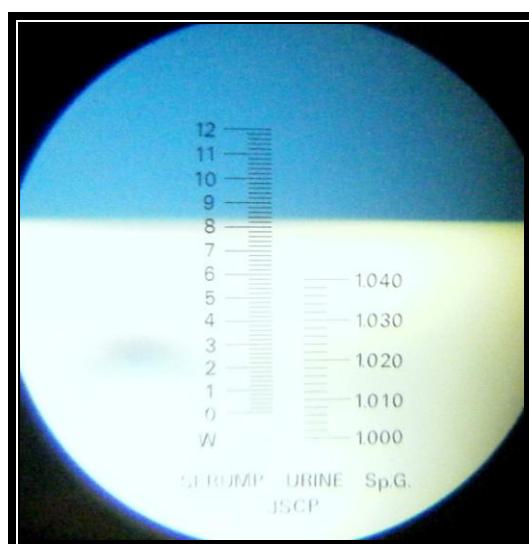


Figura 7 - Leitura dos níveis de proteínas plasmáticas totais para dosagem de

fibrinogênio, através da técnica de refratômetria. Fonte: Arquivo pessoal.

Tabela 2 - Exames hematológicos realizados de acordo com a espécie e a categoria de exame.

Análises	Bovina	Canina	Equina	Felina	Ovina	Silvestres	Total
Fibrinogênio	849	2790	3190	316	260	21	7426
Hemograma	849	2790	3190	316	260	21	7426
Pesquisa de Corpúsculo de Lentz	-	12	-	-	-	-	12
Pesquisa de Hemoparasitas	3	28	9	4	-	-	44
Plaquetas	849	2790	3190	316	260	21	7426
PPT	849	2790	3190	316	260	21	7426
Total	3399	11200	12769	1268	1040	84	29760

2.2 BIOQUÍMICOS

As análises bioquímicas começaram a ser realizadas no laboratório a partir do mês de junho de 2013 e eram realizadas pelos técnicos, sendo acompanhadas pelos residentes. As dosagens bioquímicas disponibilizadas pelo laboratório eram: aspartato aminotransferase (AST), alanina amino transferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), Creatinina, Uréia e Albumina e eram dosadas na automação (Roche®, modelo Cobas C111) de acordo com instruções do fabricante. No total, foram 915 análises, sendo a creatinina a dosagem que teve maior número de solicitações, de acordo com a tabela 3.

Tabela 3 - Descrição da casuística de exames bioquímicos realizados, de acordo com a espécie e com o tipo enzimático e substâncias químicas

Espécie	Albumina	ALT	AST	Creatinina	FA	Uréia	Total
Caninos	132	181	41	205	112	159	830
Felinos	13	15	10	21	10	16	85
Total	145	196	51	226	122	175	915

2.3 EXAME QUALITATIVO DE URINA

O exame qualitativo de urina foi a terceira análise mais frequentemente realizada durante o período da residência. Era preconizado que os exames fossem realizados no máximo meia hora após a coleta da amostra, que era avaliada através do exame físico, químico e do sedimento urinário, de acordo com Loureiro et. al. (2008). No total foram 285 urinálises, e a espécie canina apresentou maior casuística, como mostra a figura 8.

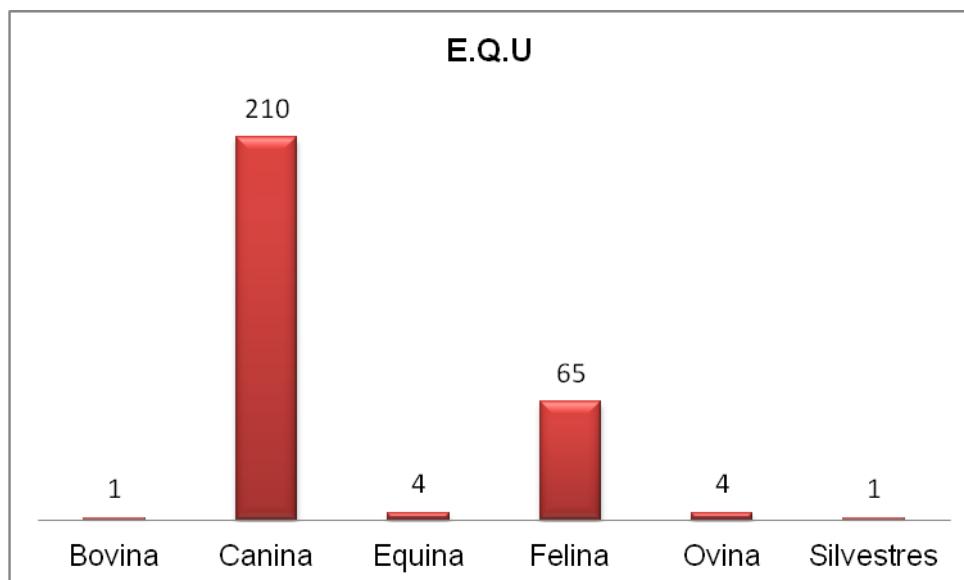


Figura 8 - Exames qualitativos de urina realizados no laboratório de patologia clínica de acordo com a espécie.

No exame do sedimento urinário era frequente a presença de cristais como estruvita (figura 9A). Um dos casos em que foi realizada urinálise de um furão (*Mustela putorius furo*), foram encontrados ovos de *Diocophyema renale* (figura 9B), parasita renal que pode levar a destruição do parênquima renal e pode acometer diversas espécies (FERREIRA et al., 2010).

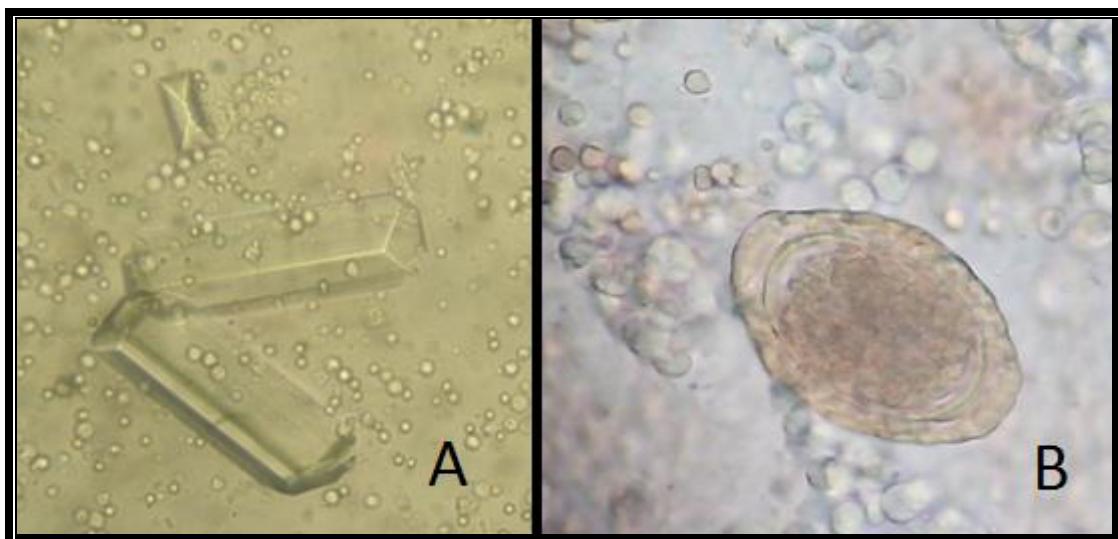


Figura 9 - Alterações encontradas no sedimento urinário. Em A, nota-se a presença de cristais de estruvita na urina de um cão. Em B observa-se a presença de um ovo de *Dioctophyma renale* na urina de um furão (*Mustela putorius furo*). Fonte: Arquivo pessoal.

2.4 EXAME PARASITOLÓGICO

Os exames parasitológicos foram divididos em parasitológicos de pele e parasitológico de ouvido, sendo um total de 161 exames. Houve mais solicitações para exames parasitológicos de pele, tanto em caninos como em felinos. Os caninos apresentaram maior casuística de acordo com a tabela 4.

Tabela 4 - Descrição da casuística de exames parasitológicos de acordo com o tipo de exame e a espécie.

Parasitológico	Caninos	Felinos	Total
Pele	118	4	122
Ouvido	33	6	39
Total	151	10	161

Os exames parasitológicos de pele eram precisamente raspados preparados em lâmina contendo óleo mineral e eram avaliados diretamente através de microscopia em aumento de 4x, onde era comum encontrar a presença de ácaros como *Demodex canis* (figura 10), *Sarcoptes canis* e *Notoedres cati*. Salientando ser o *Demodex canis* um dos parasitas mais comuns observados em cães e é específico ao hospedeiro, entretanto a sarna *Sarcoptes canis* é altamente contagiosa (WILLEMSE, 2002). Os exames parasitológicos de ouvido se caracterizavam por pesquisa de sarna otodéctica

(exame direto) e pesquisa de presença de *Malassezia sp* através de lâminas coradas.



Figura 10- Presença de ácaros de *Demodex canis* em raspado cutâneo de cão. Fonte: Arquivo pessoal

2.5 EFUSÕES

As análises de efusões corresponderam a 2% da casuística dos exames realizados durante o período de residência, sendo um total de 107 efusões divididas entre abdominais e torácicas. As efusões eram enviadas em tubos com anticoagulante (EDTA) e em tubos sem anticoagulante para avaliação quanto aos aspectos físicos, químicos, contagem de células totais e avaliação citológica (LOUREIRO et.al. 2008). A contagem total de células era realizada através do contador hematológico. A lâmina para citologia era preparada através da citocentrifugação (figura 11) e posteriormente corada através da coloração com panótico rápido e avaliada em microscopia. Foram realizadas 56 análises de efusões em caninos, 49 em equinos, uma em bovino e uma na em felinos.



Figura 11 - Imagem da citocentrífuga do laboratório de patologia clínica (HCV-UFPEL). Foto: Arquivo pessoal.

2.6 CITOLOGIA

A citologia foi dividida em citologia por PAAF (punção aspirativa por agulha fina), bacterioscopia, citologia de secreções ou líquidos e pesquisa de leveduras como de *Sporothrix spp*. A coleta de material da citologia por PAAF era realizada pelo médico veterinário clínico responsável pelo paciente, e, o diagnóstico, era realizada pelo professor de clínicas de pequenos animais, que é especialista em citologia. Os demais tipo de citologia eram realizados pela equipe do laboratório.

A casuística da citologia por PAAF foi referente ao segundo ano de residência, quando o residente passou a acompanhar os diagnósticos realizados pelo professor. No total, foram realizados 143 exames citológicos e em três espécies diferentes de acordo com a tabela 5.

Tabela 5 - Classificação dos tipos de exames citológicos de acordo com a espécie.

Análises	Caninos	Equinos	Felinos	Total
Bacterioscopia	15	-	2	17
Citologia de secreções/líquidos	24	2	3	29
Citologia por PAAF	74	-	6	80
Pesquisa de levedura	2	-	15	17
Total	115	2	26	143

Dos 17 casos de bacterioscopia (figura 12), em oito foi realizada a coloração de Gram, e nas pesquisas de leveduras, três casos na espécie felina apresentaram leveduras sugestivas de *Sporothrix spp.* (figura 13). Os diagnósticos da citologia oncológica estão descritos na tabela 6. O TVT (figura 14) foi a neoplasia mais frequente e também houve muitos casos de diagnósticos inconclusivos.



Figura 12 - Exemplo de exame bacterioscópico realizado na urina de um cão. Pode-se observar presença de inúmeros bacilos (seta). Foto: Arquivo pessoal.

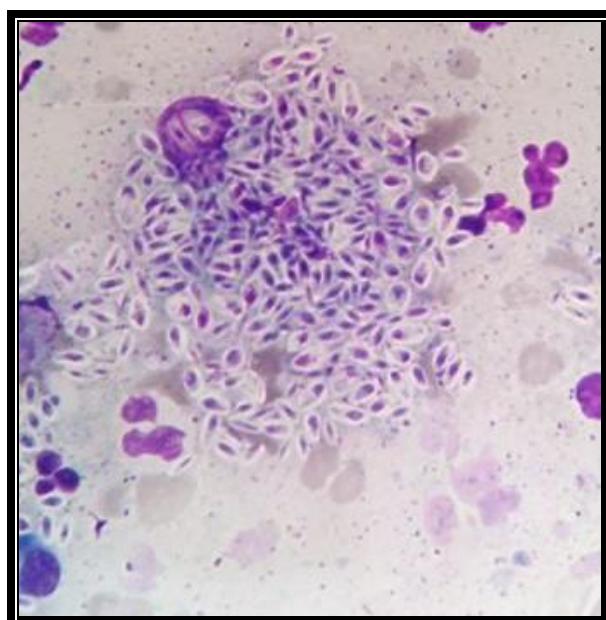


Figura 13 - Pesquisa de levedura através do exame direto. Observa-se a presença de inúmeras leveduras sugestivas de *Sporothrix sp.* Foto: Arquivo pessoal

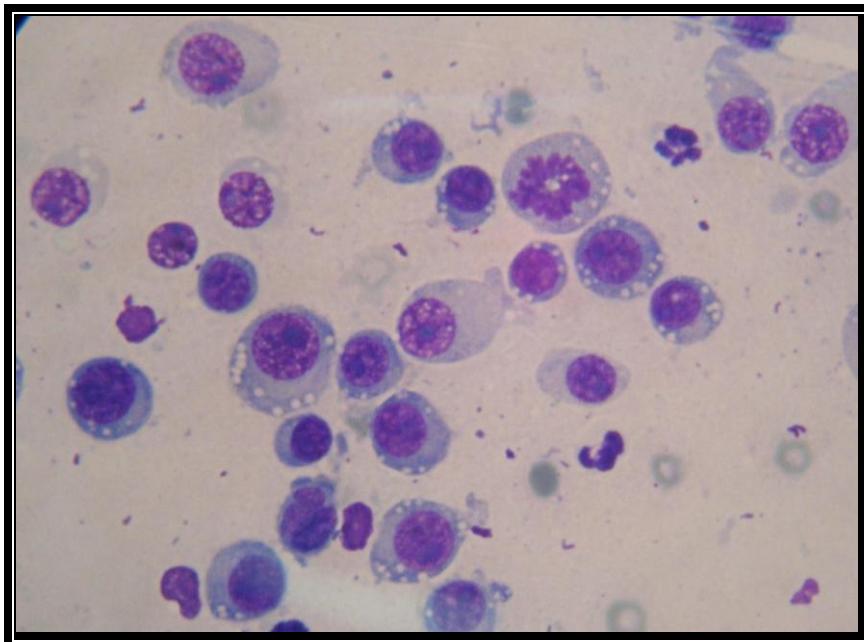


Figura 14 - Citológico de TVT. Observa-se a presença de inúmeras células redondas, que apresentam citoplasma azul claro e vacuolização citoplasmática, cromatina nuclear frouxa, nucléolos evidentes e figura de mitose. Foto: Arquivo pessoal

Tabela 6 - Descrição dos diagnósticos de citologia realizado no laboratório de patologia clínica (HCV - UFPEL).

Diagnósticos	Caninos	Felinos
Adenoma Hepatoide	1	-
Carcinoma de células de transição	1	-
Carcinoma Inflamatório	1	-
Carcinoma mamário	2	-
CCE*	2	5
Cisto epidermóide	1	-
Displasia testicular	1	-
Fibrossarcoma	2	-
Hemangiossarcoma	1	-
Inconclusivos	30	-
Linfoma	2	-
Lipoma	1	-
Mastocitoma	5	1
Osteossarcoma	1	-
TVT**	23	-
Total	74	6

*Carcinoma de Células Escamosas. **Tumor Venéreo Transmissível

2.7 TESTES DE COMPATIBILIDADE

O teste de compatibilidade foi o exame que apresentou o menor número de solicitações durante o período de residência, correspondendo a apenas 0,2% da casuística. Os testes eram realizados pela prova cruzada, a qual tem o objetivo de verificar se existe presença de anticorpos no soro do receptor contra as hemácias do doador, como descreve Gomes, S. G. (2008). No total foram realizados 27 testes de compatibilidade, onde 22 foram na espécie canina e 5 foram na espécie equina.

Nas reações positivas (sangues incompatíveis), as hemácias ficavam aglutinadas devido a presença dos anticorpos (figura 15A) já nos resultados negativos, sem reação (sangue compatível) as hemácias ficavam livres e dispersas (figura 15B).

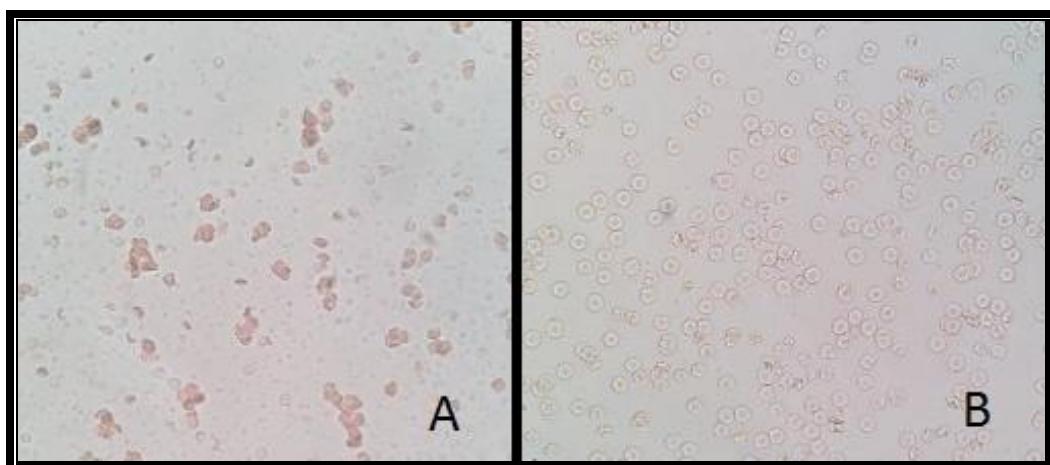


Figura 15 - Resultado do teste de compatibilidade de um canino. Em A pode-se ver aglutinação das hemárias. Em B pode-se ver hemárias dispersas.

3.0 ARTIGO SEGUNDO AS NORMAS DA REVISTA CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA.

PARÂMETROS ERITROCITÁRIOS DE RELEVÂNCIA CLÍNICA NAS ANEMIAS DE CANINOS ATENDIDOS NO HCV-UFPEL.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi correlacionar os parâmetros hematológicos (VCM, RDW, contagem absoluta de reticulócitos (CAR), índice de produção de reticulócitos (IPR), anisocitose e policromasia) a fim de determinar valores de referência para RDW, além de estimar CAR e IPR através da policromasia e anisocitose, bem como classificar as anemias quanto a resposta medular. Foram avaliadas 200 amostras de sangue de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFPeL, sendo 100 pacientes anêmicos e 100 sem anemia. Foram realizados eritrograma e RDW(%) na automação Sysmex®, poch-100iv, avaliação microscópica de esfregaços corados com panótico rápido para policromasia e anisocitose e com azul de cresil brilhante para contagem de reticulócitos (1000x). Foram utilizados dois tipos de cálculos para CAR e IPR a fim de classificar as anemias. A estatística foi feita pelo programa Statistix®, onde foram realizadas estatísticas descritivas, Tukey e Pearson. Dos cães do grupo anêmico, 45% resultaram em anemia leve, 43% moderada, 8% intensa e 4% muito intensa. Verificou-se que houve correlação estatística positiva entre todos os parâmetros, com exceção da anisocitose com VCM e também do RDW com VCM, além de uma relação forte, direta e estaticamente significativa entre anisocitose e RDW.

PALAVRAS-CHAVE: cães; RDW; anisocitose; reticulócitos.

ERYTHROCYTE PARAMETERS OF THE CLINICAL RELEVANCE OF CANINE ANEMIAS SERVED IN HCV-UFPEL.

ABSTRACT

This study purpose to correlate the haematological profiles (MCV , RDW, absolute reticulocyte count-CAR, reticulocyte production index-IPR, anisocytosis and polychromasia) for the purpose of determining the values of standard reference RDW , estimated values of CAR and IPR through polychromasia and anisocytosis still had as objective the classification of anemias as the bone marrow response . In study 200 blood samples from treated dogs were examined at the Veterinary Hospital UFPeL , 100 and 100 anemic patients without anemia. For the erythrocyte and RDW (%) was used to analyze the Sysmex ®, poch - 100iv and microscopic analysis (1000x) of peripheral blood slides stained with Panopticon quick to polychromasia and anisocytosis and brilliant cresyl blue for reticulocyte counting. Anemia were classificas used two types of calculations for CAR and IPR . Statistical analysis was done by Statistix ® program, where Pearson and Tukey tests. Dogs of the anemic group, 45 % resulted in mild anemia, 43 % moderate, severe 8 % and 4% too intense. It was found that there was a positive

statistical correlation between all parameters/profiles, except anisocytosis with MCV and RDW also with VCM , and a strong, direct and statistically significant relationship between RDW and anisocytosis.

KEYWORDS: dogs, RDW, anisocytosis; reticulocytes.

INTRODUÇÃO

A procura por exames laboratoriais em medicina veterinária tem crescido muito atualmente. Entre os diversos exames, o hemograma oferece diversidade de informações que podem auxiliar o clínico no estabelecimento do diagnóstico. Essa procura por exames que auxiliam no diagnóstico impulsionou a evolução tecnológica na execução das técnicas hematológicas, sendo cada vez mais frequente o uso de contadores automatizados. As vantagens dessa técnica são de ser de fácil execução, além de fornecer um rápido resultado e fornecer informações adicionais de alguns parâmetros hematológicos que não são conseguidos com as técnicas manuais, levando assim a substituição das técnicas manuais¹.

Anemias são tradicionalmente classificadas com base na resposta da medula óssea do animal, em anemia regenerativa e não regenerativa. A contagem do número de reticulócitos é o padrão-ouro para classificar estes dois tipos de anemia em cães. No entanto, os reticulócitos muitas vezes não são contados na prática laboratorial, e a anisocitose e policromasia avaliadas em no esfregaço de sangue, fornecem um indicador pouco satisfatório para avaliar essa resposta².

A reticulocitose varia de acordo com o grau da anemia, quanto maior for a estimulação da eritropoiese na medula, maior o número de reticulócitos, o que não acontece em casos de anemias não regenerativas. A reticulocitose deve ser avaliada em conjunto com o grau de anemia. Isso pode ser feito por meio do cálculo da contagem corrigida de reticulócitos (CCR) e a contagem absoluta de reticulócitos (CAR) são as formas mais simples de calcular a quantidade de reticulócitos liberada. O índice de produção de reticulócitos (IPR) é calculado a fim de eliminar erros resultantes do grau da anemia e liberação prematura de grandes reticulócitos³.

A classificação morfológica leva em consideração o tamanho das hemácias (volume corpuscular médio – VCM) e a concentração de hemoglobina dos eritrócitos (concentração de hemoglobina corpuscular média – CHCM)⁴. A anemia que não é

causada por disfunções da medula óssea deve mostrar evidências de eritropoiese, sendo responsiva ou regenerativa⁵. Na avaliação de um quadro anêmico o eritrograma é relevante, mas deve-se ressaltar que as características morfológicas das hemácias são essenciais para avaliar a resposta frente a esse quadro, considerando a morfologia celular, a intensidade da policromasia e anisocitose^{3,4}.

A policromasia corresponde à hemácias jovens, precocemente liberadas. São células com coloração arroxeadas, devido a presença de RNA (polirribossomos), e é indicativo de presença de regeneração⁶. Anisocitose é a variação do tamanho das hemácias no esfregaço sanguíneo, sua variação pode aumentar quando diferentes populações de células estiverem presentes, podendo ser estas, células maiores (jovens) indicando um processo regenerativo ou células menores, comuns em anemias ferroprivas³. O grau de anisocitose pode ser obtido através da avaliação de esfregaço sanguíneo⁷ e também através do valor do RDW (red cell distribution width), que determina o coeficiente de variação da distribuição do volume das hemácias expresso em porcentagem e obtido através da automação, tornando-se um meio mais rápido e sensível para avaliar a anisocitose. Sabe-se que existem diferenças na forma de determinar o volume celular e RDW entre contadores hematológicos automáticos, sugere-se que cada laboratório determine seus valores de referência para RDW⁸.

Sendo assim, o principal objetivo deste ensaio foi correlacionar os resultados de alguns parâmetros hematológicos como VCM, RDW, anisocitose, policromasia, contagem absoluta de reticulócitos (CAR) e índice de produção de reticulócitos (IPR) afim de estabelecer valores de referência para RDW em cães, parâmetro esse ainda não estabelecido para essa espécie animal no contador hematológico Sysmex®, modelo pocH – 100iV Diff. Além disso, também objetivou-se, com o presente trabalho, classificar as anemias de acordo com a resposta medular, através da contagem absoluta de reticulócitos e índice de produção de reticulócitos e relacionar esses dois parâmetros à policromasia foi avaliada visualmente em esfregaço sanguíneo, a fim de tentar estimar valores para CAR e IPR equiparáveis a avaliação visual. Além de relacionar o grau de anemia e o grau de regeneração com as suspeitas e/ou diagnósticos encontrados.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal através do registro 476. Foram utilizadas 200 amostras de sangue de cães

atendidos no HCV-UFPel, sendo 100 amostras de animais anêmicos (grupo anêmico) e 100 amostras de cães saudáveis (grupo controle). Os animais utilizados neste trabalho não foram separados quanto a raça, sexo e idade, esses cães apresentavam idades variando de 6 meses a 10 anos. As amostras de sangue foram coletadas da veia jugular externa ou cefálica com seringas comuns, o sangue foi transferido para um tubo contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético de sódio (EDTA-K2).

Após a coleta as amostras foram homogeneizadas e processadas no contador de células automático veterinário da marca Sysmex®, modelo pocH – 100iV Diff, o qual forneceu a contagem de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e o RDW. Os critérios de inclusão nos grupos foram: grupo controle animais com hematócrito superior a 36%, grupo anêmico animais com hematócrito inferior a 36%.

Para quantificação da anisocitose e policromasia foi realizada análise microscópica dos esfregaços sanguíneos. Esses esfregaços foram confeccionados e corados com panótico rápido e avaliados em objetiva de imersão de 1000x em ambos os grupos. Os valores encontrados foram classificados de acordo com a literatura⁷.

As contagens de reticulócitos foram realizadas nos dois grupos. Para isso, utilizou-se a técnica em que se utiliza o corante azul de cresil brilhante (0,5%), sendo utilizado 100µL do corante, juntamente com a mesma proporção de sangue total. Essa mistura foi homogeneizada e incubada em banho-maria a temperatura de 37°C durante 15 minutos^{7,9}. Após, foi confeccionado um esfregaço para posterior contagem de reticulócitos através de microscopia, sendo contadas 1000 células entre reticulócitos e hemácias em objetiva de imersão de 1000x⁹. Foram realizados cálculos a fim de se obter a contagem absoluta de reticulócitos, contagem corrigida de reticulócitos e Índice de Produção de Reticulócitos (IPR)^{3,4,5}.

Os resultados obtidos a partir da contagem de reticulócitos foram utilizados para determinar o grau de regeneração das anemias, podendo ser não regenerativa até regeneração máxima⁴. As 100 amostras de pacientes anêmicos foram agrupadas em graus de anemia: leve (hematócrito entre 30 – 36%), moderada (20 – 29%), intensa (13 – 19%) e muito intensa (menor que 13%)⁵.

A análise estatística foi realizada através da estatística descritiva das variáveis quantitativas RDW, hematócrito, VCM, CHCM e contagem de reticulócitos. A comparação entre as médias das variáveis quantitativas nos grupos de cães anêmicos e não anêmicos foi realizada pelo test t de student. Dentro dos grupos, essas variáveis

foram submetidas ao teste de correlação de Pearson. Para a comparação entre as médias de acordo com o grau de anisocitose e policromasia foi realizado o teste de Tukey. Os dados foram analisados no programa Statistix® 9.0 (Analytical Software, 2008), com nível de significância de $p<0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 100 amostras de cães anêmicos, 45% resultaram em anemia leve, 43% em anemia moderada, 8% em anemia intensa e 4% em anemia muito intensa. Foram observadas a presença de elementos multifatoriais desencadeando o quadro anêmico, como por exemplo, presença de miíase e queimaduras no mesmo paciente. Observou-se também casos de polifraturas, sendo no total três polifraturados e cinco animais com mais de uma doença concomitante.

Os pacientes com anemia leve obtiveram suspeita/diagnóstico de fraturas, neoplasias, piometra e insuficiência renal aguda. Esses dados estão de acordo com a literatura, que atribui a anemia leve com uma apresentação mais discreta, e muitas vezes subdiagnosticada, e geralmente estão associadas a doenças inflamatórias, infecções, traumatismos e neoplasias^{3,4}. Dentre os pacientes com anemia moderada, foram encontrados pacientes com tumor venero transmissível (TVT), feridas laceradas, fratura exposta, ruptura vesical, peritonite e parasitismo por *Diocophyema renale*, o que é condizente com a literatura⁴, que o sugere que esse grau de anemia ocorra em pacientes com neoplasias ulceradas ou sangrantes, polifraturados e fraturas expostas. Dos pacientes com anemia intensa e muito intensa observou-se casos de cinomose, peritonite, insuficiência renal crônica, neoplasias ulceradas/sangrantes e desnutrição. Achados esses que vêm de encontro as afirmações encontradas na literatura³, de que a anemia por deficiência de ferro representa o quadro anêmico mais associado à deficiência nutricional e esse tipo de anemia pode ocorrer também em hemorragia crônica (que vai resultar em deficiência de ferro).

Quanto ao grau de regeneração das anemias, verificou-se que 24 % dos pacientes apresentavam anemia não regenerativa com baixíssimo grau de regeneração, 66% apresentavam anemia regenerativa com liberação discreta a modera de células jovens e 10% apresentavam regeneração máxima. Dentre os 24% dos pacientes que apresentaram anemia não regenerativa, observou-se casos de insuficiência renal crônica,

ruptura renal, doenças virais, desnutrição, neoplasias e fraturas ósseas, processos patológicos primários que são apontados como determinantes desse tipo de achado³. Outra explicação para esse achado é a perda de sangue, para se obter resposta medular, que resulte em reticulocitose é necessário de 48 a 96 horas. Assim, os animais avaliados logo após injúria traumática usualmente apresentam anemia arregenerativa¹⁰.

O quadro anêmico da doença crônica é a forma mais comum de anemia arregenerativa em cães, e desenvolve-se secundária a uma variedade de condições inflamatórias crônicas, degenerativas ou neoplásicas. Os processos inflamatórios ou neoplásicos prolongados resultam no sequestro de ferro na medula óssea e, dessa forma, o mineral não se encontra disponível para os precursores eritróides, para eritropoiese normal¹¹. A toxicidade hematológica constitui a complicação mais comum da quimioterapia, causando as citopenias severas. Outros fatores relacionados ao paciente (má nutrição, idade avançada, disfunções concomitantes de outros órgãos, quimioterapia anterior prologanda) e relacionados com o tumor (infiltração da medula óssea, metástases) também podem afetar o grau de mielossupressão¹⁰.

Dos pacientes com anemia regenerativa a maioria apresentou doenças infecciosas, hemorragias devido a fraturas ou neoplasias ulceradas e suspeitas de hemoparasitos, o que é condizente com a literatura^{3,5}. Na anemia hemolítica, a reticulocitose é mais evidente. Geralmente, são necessários cerca de 3 a 4 dias para uma reticulocitose significativa ser encontrada no sangue após um episódio hemorrágico ou anemia hemolítica aguda, e um pico de resposta é esperado no período de 1 a 2 semanas ou mais^{1,3}.

Houve diferença entre o grupo de pacientes anêmicos e o grupo controle. Os pacientes anêmicos apresentaram todos os parâmetros do eritrograma mais reduzidos quando comparado aos animais pertencentes ao grupo controle ($P<0,001$), conforme tabela 7. Era esperado que os pacientes do grupo anêmico, apresentassem os valores hematológicos mais diminuídos em relação ao grupo controle, considerando os valores de referência para a normalidade³.

Tabela 7 -Variáveis descritas pela média e desvio padrão comparadas pelo teste t de Student para os parâmetros eritrocitários/índices hematimétricos e reticulocitários de cães anêmicos e não anêmicos

Variável	Grupo anêmicos		P
	N = 100	Média±Desvio Padrão	
	N = 100	Média± Desvio Padrão	
Eritróцитos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4,4 ± 1,07	7,12 ± 0,81	< 0,001
Hemoglobina (g/dL)	9,3 ± 2,3	15,9 ± 2,10	< 0,001
Hematócrito (%)	28,2 ± 6,4	47,2 ± 5,75	< 0,001
VCM (fL)	64,9 ± 7,5	66,2 ± 3,30	0,103
CHCM (%)	32,8 ± 1,9	33,7 ± 1,14	< 0,001
RDW (%)	15,4 ± 3,7	12,2 ± 2,5	< 0,001
CAR	107.000 ± 79	106.000 ± 54	< 0,05
IPR	0,76 ± 0,62	1,38 ± 0,77	< 0,001

VCM – Volume Corpuscular Médio; CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; RDW - *Red Blood Cell Distribution Width*; CAR – Contagem Absoluta de Reticulócitos; IPR – Índice de Produção de Reticulócitos.

As anemias em humanos são classificadas de acordo com o VCM (baixo, normal e alto) e de acordo com o RDW normal (homogênea) e alto (heterogênea)¹². Foi sugerida uma correlação direta entre o RDW e a contagem de reticulocitos em humanos encontrando valores altos para o RDW em desordens hemolíticas e após perda sanguínea, refletindo a reticulocitose¹³. No presente estudo, a média encontrada para o RDW no grupo anêmico foi maior do que os do grupo controle indicando que existe presença de regeneração no grupo dos anêmicos, como foi sugerido para as anemias humanas¹². Neste trabalho a média da CAR foi semelhante em ambos os grupos, isso se deve ao fato de que, nos dois grupos houve presença de regeneração.

Quanto as correlações apresentadas na tabela 8, houve correlação positiva entre a maioria das variáveis com exceção da anisocitose e VCM e também do RDW e VCM. Verificou-se uma relação forte e positiva ($p<0,001$) entre anisocitose e RDW, o que corrobora com os achados de um estudo que comparou a inspeção visual com a avaliação automática através da mensuração do RDW em humanos, indicando que o

RDW é de extrema precisão para avaliar a heterogeneidade do tamanho das hemácias, e que deve ser considerado o “padrão ouro” para medir anisocitose das hemácias¹⁴.

Tabela 8 - Coeficiente de correlação de alguns parâmetros hematológicos do grupo de pacientes anêmicos.

Parâmetros	Coeficiente de Correlação	P
Anisocitose x RDW	0,74	< 0,001
Anisocitose x VCM	0,02	0,829
Anisocitose x IPR	0,30	< 0,001
Anisocitose x CAR	0,35	< 0,001
Policromasia x IPR	0,39	< 0,001
Policromasia x CAR	0,43	< 0,001
RDW X VCM	-0,0043	0,966
RDW X CAR	0,32	< 0,001
RDW X IPR	0,26	<0,05

Era esperado que as relações entre anisocitose com CAR, anisocitose com IPR, policromasia com CAR e policromasia com IPR fossem positivas e estatisticamente significativas, pois a presença de anisocitose e policromasia é um indicativo de resposta medular com liberação de células jovens (reticulócitos)^{3,15}. Já a correlação entre RDW e VCM não foi significativa, semelhante a um estudo realizado em cães¹⁶, enquanto em felinos a mesma correlação entre RDW e VCM foi encontrada¹⁷. O valor de RDW aumenta primeiro que o VCM nas anemias regenerativas, pois ao valores de VCM aumentam a medida que o número de hemácias jovens e macrocíticas seja o suficiente para que a medida seja representativa. O mesmo acontece nos casos de anemia ferropriva, onde o RDW aumenta previamente a ocorrência de uma microcitose¹⁸.

As relações entre RDW e CAR, RDW e IPR foram significativas, ou seja, é possível através do valor de RDW determinar se existe presença ou não de reticulocitose. A CAR demonstrou ser mais eficiente, pois apresenta um coeficiente de correlação mais forte ($p<0,001$). Esses resultados demonstram que o RDW é um bom parâmetro para avaliar a presença de regeneração, além de ser um método rápido e não agregar custos ao hemograma. Em outro estudo, não foi encontrada correlação significativa entre o RDW e o IPR¹⁶.

Foi realizada a estatística descritiva dos valores de RDW de acordo com a anisocitose avaliada em lâmina afim de estabelecer valores de referência para o RDW. O teste mostrou haver diferenças altamente significativas ($p<0,001$) entre os quatro grupos, conforme tabela 9.

Tabela 9 - Estatística descritiva dos valores de RDW (%) do total de animais avaliados (anêmicos e controle) de acordo com a anisocitose.

Parâmetros	N	Média ± Desvio padrão	Coef. Variação (%)	Intervalo de Confiança (95%)	
				Mínimo	Máximo
Anisocitose 0	110	11,8 ± 1,77 ^d	14	11	13
Anisocitose 1	50	14,4 ± 1,57 ^c	10	14	15
Anisocitose 2	31	17,1 ± 2,78 ^b	16	16	19
Anisocitose 3	7	23,1 ± 2,80 ^a	12	>20	-
Anisocitose 4	2	27,2 ± 0,84 ^a	3	-	-

Letras diferentes na coluna representam diferenças entre as variáveis $p<0,001$

O coeficiente de variação de todos os parâmetros foi baixo, indicando pouca variação no grupo. Sendo assim, puderam-se estabelecer valores de referência do RDW de caninos (para o aparelho da marca Sysmex®, modelo pocH – 100iV Diff) conforme tabela 10.

Tabela 10 - Classificação da anisocitose de acordo com o valor de RDW.

Classificação	Intervalo RDW (%)
Anisocitose Discreta	14 - 15
Anisocitose Moderada	16 – 19
Anisocitose Intensa	> 20

A estatística descritiva da contagem absoluta de reticulócitos e policromasia e do índice de produção de reticulócitos e policromasia está descrita nas tabelas 11 e 12 respectivamente. Estas foram realizadas a fim de verificar se existe a possibilidade de estimar um valor para a CAR e IPR através da avaliação de policromasia em esfregaço sanguíneo.

Tabela 11 - Estatística descritiva da contagem absoluta de reticulócitos / μ l do total (n=200) de animais avaliados (anêmicos e controle) de acordo com a policromasia (+).

Parâmetros	N	Média ± Desvio padrão	Coef. Variação (%)	Intervalo de Confiança (95%)	
				Mínimo	Máximo
Policromasia 0	124	95.946 ± 46.836 ^C	48	87.000	104.000
Policromasia 1	48	108.279 ± 52.093 ^{BC}	48	93.000	123.000
Policromasia 2	20	135.414 ± 123.965 ^{BC}	91	77.000	193.000
Policromasia 3	6	178.373 ± 88.352 ^{AB}	49	85.000	270.000
Policromasia 4	2	279.640 ± 239.342 ^A	85	-	-

Letras diferentes na coluna representam diferenças entre as variáveis p<0,001

Tabela 12 - Estatística descritiva do Índice de Produção de Reticulócitos (IPR) do total (n=200) de animais avaliados (anêmicos e controle) de acordo com a policromasia (+).

Parâmetros	N	Média ± Desvio padrão	Coef. Variação (%)	Intervalo de Confiança (95%)	
				Mínimo	Máximo
Policromasia 0	124	1,13 ± 0,71 ^B	62	1,01	1,26
Policromasia 1	48	0,85 ± 0,48 ^B	56	0,71	0,99
Policromasia 2	20	1,03 ± 1,20 ^B	115	0,47	1,60
Policromasia 3	6	1,20 ± 0,57A ^B	48	0,59	1,80
Policromasia 4	2	2,64 ± 2,48 ^A	93	-	-

Letras diferentes na coluna representam diferenças entre as variáveis p<0,001

Não há diferença entre as variáveis demonstradas nas tabelas 11 e 12. O coeficiente de variação foi alto em ambos os casos, indicando que há muita variação dentro dos grupos. Indicando que no presente trabalho, não se pode determinar o grau de regeneração através da avaliação da policromasia em esfregaço sanguíneo. Pode-se dizer que há presença de regeneração, mas não é possível estimar valores para CAR e IPR. Em um recente estudo, onde foram comparadas a policromatofilia avaliada em lâmina com a contagem automatizada de reticulocitos, foi possível concluir que a comparação teve pouca utilidade e apresentou pouca diferença estatística¹⁹. A avaliação da policromasia pode ser subjetiva, pois depende do avaliador, do tipo de coloração usada e do microscópio, portanto a contagem de reticulócitos não pode ser descartada, e ainda é o método mais eficiente para determinar o grau de regeneração e auxiliar o clínico na conduta do tratamento³.

CONCLUSÃO

Através desse estudo foi possível constatar que o RDW é um bom parâmetro para avaliação de anisocitose em caninos, sendo possível estabelecer valores de referência, desse parâmetro, utilizando o contador hematológico automático veterinário da marca Sysmex®, modelo poCH – 100iV Diff. Conclui-se também que é possível determinar a existência de regeneração através do aumento do RDW, sendo esse um indicador de regeneração rápido, prático e que não aumenta custos ao hemograma, podendo ser utilizado como um bom auxiliar a rotina clínico laboratorial. A avaliação visual da policromasia em esfregaço sanguíneo demonstrou ser eficiente na detecção da presença ou não de regeneração, não sendo possível através da avaliação visual em lâmina estimar um valor para contagem absoluta de reticulócitos e IPR. Para se obter o grau de regeneração, é necessário realizar a contagem de reticulócitos.

Concluiu-se também, que a maioria da casuística era de anemia de grau leve, e tinham como fator primário diversas doenças inflamatórias e traumas/hemorragias. A maioria das anemias foi diagnosticada como regenerativa e tinham como fator primário doenças inflamatórias, e, as anemias arregenerativas apresentaram como fator primário doenças crônicas. A maioria dos casos de anemia em cães atendidos no HCV- UFPel, são de anemias regenerativas, mostrando assim a importância de parâmetros que avaliem a presença de regeneração, como o RDW, a anisocitose, policromasia e a contagem de reticulócitos.

REFERÊNCIAS

- 01 ALISSON, R.W.; MEINKOTH, J.H. Hematology Without the Numbers: In-Clinic Blood Film Evaluation. *Vet Clin Small Anim* V.37, (2007) 245–266.
- 02 NEIGER, R.; HADLEY, J.; PFEIFFER, D. U. Differentiation of dogs with regenerative and non-regenerative anaemia on the basis of their red cell distribution width and mean corpuscular volume: In – *The Veterinary Record*, v.150, p. 431-434, 2002.
- 03 JAIN, N.C. Essentials of veterinary hematology. 5.ed. Philadelphia Lea & Febiger, 1993, 417p.
- 04 THRALL, M.A. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 1º ed., São Paulo: Editora Roca, 2007 582p
- 05 TVEDTEN, H. Laboratory and clinical diagnosis of anemia. In: WEISS, D. J.; WARDROP, J. (Eds.). Schalm's veterinary hematology. 6.ed. Iowa:Wiley-Blackwell,2010, p. 152-161.

- 06 PIERRE, R.V. Reticulocytes – Their Usefulness and Measurement in Peripheral Blood: In – Clinics In Laboratory Medicine, v. 22, p. 63 –79, 2002.
- 07 HARVEY, J. W. Veterinary hematology: a diagnostic guide and color atlas, Elsevier, p.360, 2012.
- 08 RAVEL, R. Laboratório clínico: aplicação clínica dos dados laboratoriais, 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997, 640 p.
- 09 RILEY, R.S.; BEM-ERZA, J.M.; GOEL, R.; TIDWELL, A. Reticulocytes and Reticulocyte Enumeration: In - Journal of Clinical Laboratory Analysis 15:267–294 (2001)
- 10 COUTO, C. G. Anemia. In: NELSON R. W.; COUTO, C. G. Medicina Interna de Pequenos Animais. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. Cap. 83. p. 1211-1225.
- 11 LOUREIRO, V. S.; FREITAS, D. A.; HEIJDEN, K. M. Principais Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária. In: SANTOS, M. M.; FRAGATA, F. S. Emergência e Terapia Intensiva Veterinária em Pequenos Animais. São Paulo: Roca, 2008. Cap. 38. p. 737-792.
- 12 BESSMAN, D; GILMER JR, P. R; GARDNER, F. H. Improved classification of anemias by MCV and RDW. American Journal of Clinical Pathology, Philadelphia, 1983, v.322, p.322-326.
- 13 ROBERTS, G.T.; EL BADAWI, S. Red blood cell distribution width index in some hematologic diseases. American Journal of Clinical Pathology, Philadelphia, 1985, v.83, n.2, p.222-226.
- 14 SIMEL, D.L.; DeLONG, E.R.; FEUSSNER, J.R. et. al. Erythrocyte anisocytosis: visual inspection of blood films vs automated analysis of red blood cell distribution width. Arch. Intern. Med., 1988, v. 148, p 822 – 824.
- 15 COWGILL, E.S.; NEEL, J.A.; GRINDEM, C.B. Clinical application of reticulocyte counts in dogs and cats. In: Vet Clin Small Anim 33 p. 1223–1244 (2003).
- 16 D'AVILA, A. E. R. PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E CLASSIFICAÇÃO DE ANEMIA EM UMA POPULAÇÃO DE CÃES ATENDIDOS NO LACVET - UFRGS. 2011. 58 f. Monografia (Especialização) - Curso de Residência Médica em Patologia Clínica Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/monografia_anaelize.pdf>. Acesso em: 05 mar. 2013.
- 17 SILVA, P. H. Amplitude de distribuição do diâmetro dos eritrócitos (RDW), volume corpuscular médio e reticulócitos em gato doméstico hígido (*Felis Catus linnaeus*, 1758). 2013. 28 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestre em Ciência Animal, Departamento de Fisiopatologia Animal, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2013.
- 18 AGUILÓ, J.; Valores Hematológicos. Clínica Veterinaria de Pequeños Animales, v.21, n.2, 2001, p. 75 – 85.
- 19 COLLICUTT, N. B.; GRINDEM, C. B.; NEEL, J. A.. Comparison of manual polychromatophilic cell and automated reticulocyte quantification in evaluating regenerative response in anemic dogs. Veterinary Clinical Pathology: American Society for Veterinary Clinical Pathology, Raleigh, v. 2, n. 41, p.256-260, 05 nov. 2013.

4.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A procura por exames laboratoriais em medicina veterinária tem crescido muito nos últimos anos. Além do mais, a diversidade e as inovações tecnológicas na área vêm crescendo cada vez mais. Por isso, a procura pela a especialização de médicos veterinários na área de patologia clínica também vem aumentando.

Ao final desse período de dois anos de residência pude ampliar meus conhecimentos na área, aprendendo muitas coisas da área tanto na parte prática como teórica. Além do aprendizado, tive a oportunidade de trabalhar em equipe com os outros residentes de todas as outras áreas da residência multiprofissional.

No segundo ano de residência, tive a oportunidade de desenvolver um projeto de pesquisa, o qual foi muito importante para adquirir conhecimentos na área de hematologia e também pude aprender como desenvolver um projeto de pesquisa e artigo científico.

Concluo que a residência em medicina veterinária é uma etapa muito importante da vida acadêmica, pois ao terminar a residência me sinto preparada para o mercado de trabalho.

5.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

FERREIRA, V. L.; MEDEIROS, F. P.; JULY, J. R.; RASO, T. F.; Dioctophyma renale in a dog: Clinical diagnosis and surgical treatment. Veterinary Parasitology, v. 168, p. 151 – 155, 2010.

GOMES, S. G. R. Transfusão Sanguínea. In: SANTOS, M. M.; FRAGATA, F. S. Emergência e Terapia Intensiva Veterinária em Pequenos Animais. São Paulo: Roca, 2008. Cap. 15. p. 172-190.

KANEKO, JJ., SMITH, H. The estimation of plasma fibrinogen and its clinical significance in the dog. The California Veterinarian, v. 21, n.4, p. 21-24, 1967.

LOUREIRO, V. S.; FREITAS, D. A.; HEIJDEN, K. M. Principais Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária. In: SANTOS, M. M.; FRAGATA, F. S. Emergência e Terapia Intensiva Veterinária em Pequenos Animais. São Paulo: Roca, 2008. Cap. 38. p. 737-792.

WILLEMSE, T. Doenças parasitárias. In: Dermatologia clínica de cães e gatos. Barueri: Manole, 2002. Cap 3. P. 27 – 39.

6.0 ANEXOS



CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA

Sede: Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás
Cx. Postal 131, CEP 74001-970, Campus II UFG, Goiânia – GO
Fone:(062)3521-1594/3521-1568 Fax: (062)3521-1593
e-mail: revistacab@gmail.com

DECLARAÇÃO

Declaramos, para fins de comprovação curricular, que o trabalho intitulado **“PARÂMETROS ERITROCITÁRIOS DE RELEVÂNCIA CLÍNICA NAS ANEMIAS DE CANINOS ATENDIDOS NO HCV-UFPEL”**, tendo como autores Anelise Borgartz, Carmem Lucia Garcez Ribeiro, Bruno Souza Dias, Bruna da Rosa Curcio, Luciana Aquini Fernandes Gil, Ana Raquel Mano Meinerz foi submetido à **Revista Ciência Animal Brasileira - ISSN 1089-6891 - Goiânia-GO**, encontrando-se no estágio de avaliação.

Goiânia, 12 de fevereiro de 2014.

Antônio José Siqueira Borges
Secretário Revista Ciência Animal Brasileira

CÓPIA DO PROJETO

PRPPG – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

**Parâmetros Eritrocitários de Relevância Clínica nas Anemias
de Caninos Atendidos no HCV - UFPel**

Anelise Borgartz

Pelotas, 28 de fevereiro de 2013

1 CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA

A procura por exames laboratoriais em medicina veterinária tem crescido muito atualmente, principalmente a procura pelo hemograma devido à diversidade de informações que o exame pode oferecer, auxiliando o clínico ou cirurgião em uma série de diagnósticos. Se observou que nas últimas décadas houve uma grande evolução tecnológica na realização do hemograma, e as técnicas manuais tem sido substituídas por sistemas automatizados que apresentam maior precisão nos resultados e em menor tempo (GROTTO, 2009).

Apesar das automações fornecerem inúmeros vantagens como facilidade na execução e obtenção de resultados em um curto intervalo de tempo, é imprescindível que seja feita a leitura do esfregaço sanguíneo através da microscopia, pois é através deste, que podem ser analisadas a morfologia das células, a intensidade da hipocromia e anisocitose e a presença de células jovens que indicam um processo de regeneração diante de um quadro anêmico.

A anemia é um dos sinais que podem ser detectados através de um hemograma. Ela consiste em uma diminuição absoluta no número de hemácias, na redução da concentração de hemoglobina e no hematócrito. Deve-se considerar a possibilidade de ser uma anemia relativa, devido a expansão do volume plasmático ou coletas inadequadas provenientes de acessos para fluidoterapia (DUCAN, 2005). Salientando que a anemia é resultante de uma doença primária, responsável pela destruição de hemácias ou hemólise, pela perda de sangue decorrente de hemorragia, pela menor produção de hemácias (fatores nutricionais, genéticos ou doenças crônicas) ou pela associação de alguns desses eventos (THRALL, 2007; BATISTA-FILHO, 2008).

O Hematócrito ou volume globular (VG) é o volume relativo de hemácias dentro do volume de sangue, o valor é expresso percentualmente. O VG é o indicador mais rápido, preciso e de baixo custo que pode indicar um quadro anêmico, sendo um dos mais importantes exames entre os parâmetros da série vermelha no sangue (SMITH, 1991). O hematócrito pode ser obtido através da leitura em tubos de microhematócrito, sendo essa uma alternativa

economicamente vantajosa pelo baixo custo da técnica. Pode ser obtido também pelo contador automático de células, sendo calculado pelo equipamento a partir da contagem de hemácias (He) e do volume corpuscular médio (VCM) (THRALL, 2007).

A anemia pode ser classificada segundo critérios morfológicos (aspecto dos eritrócitos), grau ou intensidade e aspectos etiopatológicos (SPORRI; STUNZI, 1977). Atualmente, considera-se a atividade da medula óssea em resposta ao estado anêmico, classificando as anemias como regenerativas ou não regenerativas (BATISTA-FILHO, 2008). A classificação morfológica leva em consideração o tamanho das hemácias (volume corpuscular médio – VCM) e a concentração de hemoglobina dos eritrócitos (concentração de hemoglobina corpuscular média – CHCM). O VCM classifica a anemia em normocítica, macrocítica e microcítica, dependendo se o tamanho dos eritrocitos estiver dentro dos valores de referência para espécie, aumentado ou diminuído, respectivamente (DUCAN, 2005). A presença de anemia microcítica, quase sempre, indica deficiência de ferro, principalmente quando se considera o volume celular. A anemia macrocítica indica que a medula óssea se encontra funcional e está liberando células imaturas, de tamanho maior que o normal (THRALL, 2007).

Já o CHCM classifica as anemias como normocrômica, hipocrómica ou hiperocrômica. Se os eritrócitos são normocrómicos, a concentração de hemoglobina está dentro do intervalo de referência para a espécie. Se são hipocrómicos, está diminuída. A hipocrómia está associada a maior quantidade de células imaturas na circulação, pois os reticulócitos (hemácias jovens) ainda estão sintetizando hemoglobina. A hiperchromasia está relacionada mais frequentemente com a hemólise ou a administração de oxiglobina, já que os eritrócitos não produzem excessos de hemoglobina, é possível notar também um falso aumento de CHCM na presença de lipemia ou presença de corpúsculos de Heinz (DUCAN, 2005; THRALL, 2007). Ou ainda nos casos em que o tamanho das hemácias for menor que o limiar de detecção do contador de células, também é possível notar um falso aumento de CHCM (THRALL, 2007).

A anemia também é classificada com base na resposta da medula óssea e essa classificação é muito útil no diagnóstico e prognóstico do quadro

anêmico. A anemia é classificada como regenerativa ou não regenerativa, com base na quantidade de hemácias imaturas na corrente sanguínea. A liberação precoce de hemácias imaturas é uma resposta normal da medula óssea especialmente em cães e gatos, sendo de rara ocorrência em equinos e bovinos. Essa liberação é em decorrência da maior síntese de eritropoetina, principalmente pelo tecido renal, induzida pela hipóxia (THRALL, 2007).

A anemia que não é causada por disfunções da medula óssea deve mostrar evidências de eritropoiese, sendo responsiva ou regenerativa (TVEDTEN, 2010). Somente após 2 ou 3 dias do desenvolvimento da anemia que se verifica uma resposta regenerativa e, a partir disso, é possível encontrar achados que condizem a uma resposta medular ativa como: a presença de reticulócitos, de anisocitose, policromasia e corpúsculos de Howell Jolly (LOPES et. al, 2007; FIGHERA, 2001).

A anisocitose é a variação do tamanho dos eritrócitos no esfregaço sanguíneo, e seu valor podem aumentar quando diferentes populações de células estiverem presentes, podendo ser estas, células maiores (jovens) indicando um processo regenerativo ou células menores, comuns em anemias ferroprivas. O grau de anisocitose pode ser obtido através da avaliação de esfregaço sanguíneo (HARVEY, 2001) e também através do valor do RDW (*red cell distribution width*), através da medição do coeficiente de variação da distribuição do volume das hemácias expresso em porcentagem e obtido através da automação. Devido ao fato de existirem diferenças na forma de determinar o volume celular e RDW entre contadores hematológicos automáticos, Ravel (1997) sugere que cada laboratório determine seus valores de referência para RDW.

Segundo Aguiló (2001) o valor de RDW aumenta primeiro que o VCM nas anemias regenerativas, pois o VCM aumenta a medida de que o número de hemácias jovens e macrocíticas seja o suficiente para que a medida seja representativa. O mesmo acontece nos casos de anemia ferropriva, o RDW aumenta antes que apareça a microcitose.

A policromasia corresponde às hemácias jovens (provavelmente reticulócitos), precocemente liberadas. São células grandes, cuja cor é mais azulada do que as hemácias maduras. A verificação da presença de hemácias policromatofílicas é muito importante para determinar a causa de anemia

(presença de regeneração). Anemias causadas por hipoplasia ou aplasia medular eritróide, não apresentam aumento no número de células policromatofílicas, pois não há regeneração. Existe uma boa relação entre o grau de policromasia e a contagem de reticulócitos, contudo, é mais indicado quantificar a resposta regenerativa por meio da contagem de reticulócitos (THRALL, 2007).

Reticulócitos são eritrócitos imaturos que contém ribossomos, polirribossomos e mitocôndria. Os ribossomos e polirribossomos contribuem para sua policromasia, como é observado em esfregaços de sangue (BAUER, 1970). Os reticulócitos são liberados precocemente como resposta a uma anemia, devido à resposta da medula óssea em decorrência da maior síntese de eritropoetina. A contagem de reticulócitos classifica as anemias como regenerativa ou não regenerativa, através do cálculo do número absoluto de reticulócitos, sendo o melhor indicador da resposta eritróide da medula óssea (DUCAN, 2005; THRALL, 2007).

1.1 OBJETIVOS E METAS

Objetivo geral:

- Auxilio clínico na classificação das anemias, indentificando como regenerativa e não regenerativa, avaliando a importância da contagem de reticulócitos para determinar níveis de regeneração da anemias.

Objetivo específico:

- Estabelecer uma relação com o padrão de classificação para hipocromia e anisocitose associada a parâmetros hematológicos como VCM, CHCM e RDW juntamente com a determinação dos níveis de reticulócitos relativo e absoluto.

1.2 METODOLOGIA

Amostras:

Serão avaliados no total 200 exames hematológicos na espécie canina, sendo 100 provenientes de caninos anêmicos e 100 caninos sem anemia (grupo controle). Todos os exames serão provenientes de caninos atendidos no Hospital de Clínicas Veterinária da UFPel, variando entre animais saudáveis que vieram para procedimentos cirúrgicos eletivos e animais com variadas

patologias. Os animais selecionados terão idade de seis meses a dez anos. Será realizada apenas uma coleta por paciente, sendo que o proprietário do cão estará ciente da participação do seu animal no projeto de pesquisa, e assinará um termo de autorização (anexo 1). O diretor e responsável pelo hospital veterinário também autoriza a utilização dos pacientes do hospital no projeto de pesquisa (anexo 2).

Coleta:

A coleta do sangue será feita pelos médicos veterinários atuantes no hospital de clínicas veterinária da UFPel, em caninos que chegarem para atendimento clínico e só serão realizadas coletas de sangue nos animais os quais o médico veterinário julgar necessidade de se fazer um exame de sangue.

Para realização das coletas não será utilizado nenhum protocolo de sedação ou tranquilização, executando-se conforme as normas técnicas a respeito de coleta de amostras biológicas em animais em atendimento. Segundo Crow & Walshaw (1997) e Feitosa (2004), o cão deverá ser contido fisicamente, sendo posicionado em decúbito external em cima da mesa de atendimento, e as patas da frente serão esticadas e seguradas com uma mão, e com a outra mão o pescoço do animal será estendido, virando o focinho para o lado e para cima.

Será preciso realizar tricotomia no local da punção (na área da veia jugular), com a utilização de um tricotomo, e após, é necessário que seja feita a desinfecção do local da punção, com álcool 70% e algodão. O garrote será feito através de uma pressão com os dedos na região caudal do pescoço, próximo à entrada do tórax, até que a veia jugular fique ingurgitada para que a punção venosa seja feita (CROW & WALSHAW, 1997).

O bisel da agulha deverá estar voltado para cima e a agulha será introduzida em um ângulo de 30º com a pele, até a metade da agulha, e será aspirado a quantidade de 2 ml de sangue. É importante a utilização de material correto para coleta, sendo que para pacientes de até 30 kg, é indicado que seja utilizada uma agulha de calibre 22 e para pacientes acima de 30 kg, será utilizado agulha de calibre 20, como indica Crow, 1997. Após a retirada da agulha será necessário que se faça uma leve pressão com uma bucha de algodão no local da coleta, até que o pequeno sangramento cesse (CROW &

WALSHAW, 1997).

Processamento das amostras:

No máximo uma hora após a coleta das amostras, essas serão homogeneizadas e processadas no contador de células automático veterinário da marca Sysmex®, modelo pocH – 100iV Diff, o qual libera a contagem de leucócitos totais, hemácias, hemoglobina (%), hematócrito (%), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), plaquetas e RDW.

Será classificado como parte do grupo dos anêmicos, todos os cães que obtiverem o hematócrito inferior 36% (TVEDTEN, 2010) e cães com hematócrito acima desse valor, farão parte do grupo controle. Será estabelecido um valor fisiológico para o RDW através da utilização de amostras do grupo controle. Esse valor de RDW será correlacionado com a anisocitose e a policromasia encontrados no esfregaço sanguíneo. Esse esfregaço será feito como descreve Harvey (2001), a partir de sangue total, colocando-se uma gota em uma das extremidades da lâmina e uma lâmina extensora deve ser posicionada em um ângulo de 30º frente à gota de sangue, e após, movimentar a lâmina para frente estendendo a gota de sangue. O esfregaço deve ser seco a temperatura ambiente e após corado com panótico rápido e avaliado em lente de imersão de 1000x.

Os valores encontrados serão classificados conforme descreve Harvey, 2001 na figura 1. Serão comparados os valores de RDW de acordo com os graus de policromasia e anisocitose descritos. Além disso, serão correlacionados também, os valores de VCM com os valores de RDW, pois segundo Neiger et al., (2002) esses parâmetros podem fornecer os primeiros indícios de resposta da medula óssea em pacientes anêmicos.

Semiquantitative Evaluation of Erythrocyte Morphology Based on Average Number of Abnormal Cells per 1000X Microscopic Monolayer Field.*				
	1+	2+	3+	4+
Anisocytosis				
Dog	7–15	16–20	21–29	>30
Cat	5–8	9–15	16–20	>20
Cattle	10–20	21–30	31–40	>40
Horse	1–3	4–6	7–10	>10
Polychromasia				
Dog	2–7	8–14	15–29	>30
Cat	1–2	3–8	9–15	>15
Cattle	2–5	6–10	11–20	>20
Horse	rarely observed	—	—	—

Figura 1 - Classificação de anisocitose e policromasia de acordo com o número de células alteradas encontradas no esfregaço sanguíneo, de acordo com HARVEY, 2001.

Será feita a contagem de reticulócitos em todos os pacientes, tanto do grupo controle como os pacientes com anemia. Para isso, será utilizada a técnica descrita por Harvey (2001), a qual utiliza o corante azul de cresil brilhante, sendo utilizado 100µL do corante, juntamente com a mesma proporção de sangue total. Essa mistura será homogeneizada e incubada em banho-maria a temperatura de 37°C durante 15 minutos. Após, será realizado o preparo de um esfregaço com posterior contagem de reticulócitos através de microscopia. Serão contados 1000 células entre reticulócitos e hemácias em lente de imersão de 1000x. Após, será determinada o percentual de reticulócitos de acordo com o número de reticulócitos encontrados em 1000 células. Posteriormente serão feitos os cálculos de porcentagem relativa e contagem absoluta de reticulócitos conforme figura 2.

Reticulócitos
$\text{Relativo} = \frac{\% \text{ reticulócitos} \times \text{hematócrito do paciente}}{\text{hematócrito médio da espécie}}$
$\text{Absoluto} = \frac{\% \text{ reticulócitos} \times \text{hemácias do paciente}}{100\%}$

Figura 2 - Fórmula do cálculo relativo e absoluto do nível de reticulócitos de acordo com THRALL, 2007.

Os resultados obtidos da contagem de reticulócitos serão classificados de acordo com o grau de regeneração das anemias, podendo ser não regenerativa até regeneração máxima, conforme descreve Thrall (2007).

Será realizada estatística descritiva das variáveis quantitativas RDW, hematócrito, VCM e contagem de reticulócitos. A comparação entre as médias da variáveis quantitativas nos grupos de cães anêmicos e não anêmicos será realizada pelo test t de student. Dentro dos grupos, essas variáveis serão submetidas ao teste de correlação de Pearson. Para a comparação entre as médias de acordo com o grau de anisocitose e policromasia será realizado o teste de Tukey. Os dados serão analisados no programa Statistix® 9.0 (Analytical Software, 2008), no nível de significância de $p<0,05$.

1.3 EQUIPE

Coordenação:

Carmen Lucia Garcez Ribeiro – Professora do Departamento de Clínicas Veterinária – UFPel

Colaboradores:

Anelise Borgartz, Médica Veterinária – Residente em Patologia Clínica

Ana Raquel Mano Meinrz - Professora do Departamento de Clínicas Veterinária

Luis Eduardo B. Krause, Bioquímico - laboratório de patologia clínica – HCV

Luciana A. Fernandes Gil, Bioquímico - laboratório de patologia clínica – HCV

Bruna da Rosa Curcio - Professora do Departamento de Clínicas Veterinária

Marlete Bum Cleff - Professora do Departamento de Clínicas Veterinária

Eduardo Santiago Ventura - Professor do Departamento de Clínicas Veterinária

Cristiano Silva da Rosa – Diretor do hospital de Clínicas Veterinária – UFPel

Fábio da Silva e Silva – Médico Veterinário do HCV – UFPel

Bruno Souza Dias – Residente em Patologia Clínica - HCV

Cristiane Athayde – Residente em Clínica Médica de Pequenos Animais – HCV

Cristine Cioato – Residente em Clínica Médica de Pequenos Animais – HCV

Karina Guterres – Residente em Clínica Médica de Pequenos Animais – HCV

Lucimara Bergmann – Resd. em Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais – HCV

Alexandre Correa – Resid. em Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais – HCV

Carolina Decker Lemos, Médica Veterinária, Residente em imagem – HCV

Thomas Normanton Guim – Médico Veterinário do – HCV – UFPel

1.4 RESULTADOS E IMPACTOS ESPERADOS

Resultados esperados:

- Estabelecer um valor padrão fisiológico para o RDW em cães.
- Estabelecer uma classificação padrão de anisocitose e policromasia no laboratório de patologia clínica veterinária do HCV – UFPel.

Repercussão e impactos esperados:

- Auxiliar no diagnóstico das anemias em cães e classifica-las de acordo com o grau de regeneração medular, auxiliando o clínico a identificar a causa da alteração.
- Utilizar o RDW para classificação da anisocitose, facilitando a execução da técnica laboratorial já que o RDW é um valor fornecido pelo aparelho de automação.
- Gerar publicações em revistas científicas na área de interesse.

1.5 CRONOGRAMA DO PROJETO

As atividades do projeto iniciarão em março de 2013 até março de 2014, sendo elas: Realização de exames, análise dos dados, análise estatística e confecção de artigos e resumos. O período da realização de cada atividade está descrito na figura 3 abaixo.

Atividades desenvolvidas	Período												
	Meses de 2013												Meses de 2014
	Mar	Ab	Ma	Ju	Ju	Ag	Se	Ou	No	De	Ja	Fe	Ma
Realização dos exames	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
Análise dos dados							x	x	x	x	x	x	
Análise estatística							x	x	x	x	x	x	
Confecção dos artigos e resumos											x	x	x

Figura 3 - Cronograma das atividades realizadas no projeto durante o ano de 2013 e 2014.

1.6 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas.

1.7 DISPONIBILIDADE EFETIVA DE INFRA-ESTRUTURA DE APOIO TÉCNICO PARA O DESENVOLVIMENTO DO PROJETO

O HCV conta com ambulatórios para atendimento clínico, com um laboratório de patologia clínica veterinária, o qual possui diversos equipamentos para realização de hemograma, contagem de plaquetas, dosagem de proteína plasmática total e fibrinogênio, avaliação citológica, urinálise e análises de efusões. Dentre os equipamentos encontram-se uma automação de hematologia veterinária da marca Sysmex®, modelo pocH – 100iV Diff, uma centrífuga de micro-hematócrito da marca CentriBio® modelo H-240, duas centrífugas de tubo de até 4000rpm/min da marca CentriBio®, um banho maria da marca Biomatic®, uma citocentrífuga da marca Presvac, dois refratômetros manuais da marca Biosystems®, um equipamento de bioquímica da marca Roche® modelo Cobas c111. Possui também, 10 microscópios da marca Olympus®, modelo CX21FS1 e um contador de células sanguíneas da marca Kacil®, modelo CCS – 01. O hospital veterinário e o laboratório de patologia clínica dispõe de material de consumo como seringas, agulhas, lâminas, corantes, capilares, etc.

1.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILÓ, J.; Valores Hematológicos. **Clínica Veterinária de Pequeños Animales**, v.21, n.2, p. 75 – 85, 2001.

BATISTA-FILHO, M.; SOUZA, A.I.; BRESANI, C.C. Anemia como problema de saúde pública: uma realidade atual. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.13, n.6, p.1917 – 1922, 2008.

BAUER, J.D. Methods of examining blood. In:FRANKEL, S.; REITMAN, S.; SONNENWIRTH, A.C. (Eds.).**GRADWOHL'S clinical laboratory methods and diagnosis**. 7.ed. vol.1, p. 476-519, Saint Louis: The C.V. Mosby Company, 1970.

CROW, S. E.; WALSHAW, S. O.; Blood Collection. **Manual of Clinical Procedures in the Dog, cat & Rabbit**. 2 ed. P. 17 – 31. Ed. Lippincott Williamw e Wilkins. Usa, 1997.

DUCAN; PRASSES. Eritrócitos. **Patología Clínica Veterinaria**. 4ed. p 1 – 54, Barcelona: Multimedica, 2005.

FEITOSA, F.L. Contenção física dos animais domésticos. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. p. 29-45. São Paulo: Roca, 2004.

FIGHERA, R. A. **Anemia em medicina veterinária**. 214 p. Santa Maria: O autor, 2001.

GROTTO, H.Z.W. O hemograma: Importância para interpretação da biópsia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.31, n.3, São Paulo, p.178 – 182, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v31n3/aop4509.pdf>.

HARVEY, J. W. **Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2001. 228 p.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. **Manual de patologia clínica veterinária**. 3. ed. 107 p. Santa Maria: UFSM/ Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 2007.

RAVEL, R. **Laboratório clínico: aplicação clínica dos dados laboratoriais**. 6. ed. 640 p. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1997.

THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1º ed., 582p. Editora Roca, 2007.

SMITH, R.D. **Veterinary Clinical Epidemiology**. 234p. Boston: Butterworth-Heinemann, 1991.

SPORRI, H.; STUNZI, H. **Fisiopatología Veterinaria**. p. 25-31 Espanha: Acríbia, 1977.

TVEDTEN, H. Laboratory and clinical diagnosis of anemia. In: WEISS, D. J.; WARDROP, J. (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6.ed. p. 152-161. Iowa:Wiley-Blackwell,2010.

CADASTRO DO PROJETO NO COBALTO



Universidade Federal de Pelotas
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Departamento de Pesquisa

Parâmetros Eritrocitários de Relevância Clínica nas Anemias de Caninos Atendidos no HCV-UFPel

1. Identificação

Título do Projeto: **Parâmetros Eritrocitários de Relevância Clínica nas Anemias de Caninos Atendidos no HCV-UFPel**
 Data Cadastro: **21/05/2013**
 Unidade: **HCV - Hospital de Clínica Veterinária**
 Grupo de Pesquisa: **Patologia Clínica Veterinária - UfPel**
 Período de Realização: **15/03/2013** até **16/03/2014**
 Carga Horária Semanal: **4**

2. Dados Gerais

Grande Área CNPQ:

Área CNPQ:

Resumo: **A procura por exames laboratoriais em medicina veterinária tem crescido muito atualmente, principalmente a procura pelo hemograma devido à diversidade de informações que o exame pode oferecer, auxiliando o clínico ou cirurgião em uma série de diagnósticos. A anemia é uma das patologias que pode ser diagnosticada através do hemograma. Ela consiste em uma diminuição absoluta no número de hemácias, na diminuição da concentração de hemoglobina e no hematocrito. O objetivo do projeto é classificar as anemias de cães de acordo com o grau de regeneração. Estabelecer uma relação com o padrão de classificação para hipocromia e anisocitose associada a parâmetros hematológicos como VCM, CHCM e RDW juntamente com a determinação dos níveis de reticulócitos relativo e absoluto. Serão avaliados no total 200 exames hematológicos na espécie canina, sendo 100 provenientes de caninos anêmicos e 100 caninos sem anemia (grupo controle). Todos os exames serão provenientes de caninos atendidos no Hospital de Clínicas Veterinária da UFPel, variando entre animais saudáveis que vieram para procedimentos cirúrgicos eletivos e animais com variadas patologias. Serão avaliados o hematocrito dos pacientes, o VCM, CHCM, o grau de anisocitose em lámina, o RDW e a contagem de reticulócitos a fim de classificar a anemia como regenerativa ou não regenerativa e estabelecer um valor padrão para o RDW da espécie. Os resultados esperados são: Estabelecer um valor padrão fisiológico para o RDW em cães e estabelecer uma classificação padrão de anisocitose e policromasia no laboratório de patologia clínica veterinária do HCV – UFPel.**

Envolve experimentação com modelos de animais sob registro CEEA: **Sim** Registro CEEA: **476**

Objetivos: **Auxílio clínico na classificação das anemias, identificando como regenerativa e não regenerativa, avaliando a importância da contagem de reticulócitos para determinar os níveis de regeneração das anemias. Estabelecer uma relação com o padrão de classificação para hipocromia e anisocitose associada a parâmetros hematológicos como VCM, CHCM e RDW juntamente com a determinação dos níveis de reticulócitos relativo e absoluto.**

3. Equipe

Coordenador

SIAPe	Nome	Email
420450	CARMEN LUCIA GARCEZ RIBEIRO	caluribeiro@yahoo.com.br

4. Fonte financiadora

Nenhuma fonte encontrada

O Coordenador deste projeto declara, formalmente, que:

Para validar este documento acesse o site da UFPel item **Validador de documentos** e informe o código **513421375D**



Universidade Federal de Pelotas
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Departamento de Pesquisa

Parametros Eritrocitarios de Relevancia Clinica nas Anemias de Caninos Atendidos no HCV-UFPel

- I. Tem pleno conhecimento dos trâmites a serem seguidos para cadastro junto ao Departamento de Pesquisa da Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação (PRPPG) e o registro no COCEPE;
- II. Se responsabiliza pelo encaminhamento do projeto em seu Departamento e no Conselho Superior da unidade para sua aprovação;
- III. Assume inteira responsabilidade pela veracidade das informações contidas na presente solicitação e pelos danos pessoais, materiais e ambientais, decorrentes da execução do projeto e aplicação de seus resultados.

.....
CARMEN LUCIA GARCEZ RIBEIRO - Coordenador
09 Dezembro 2013

.....
Chefe do Departamento

.....
Presidente do Conselho Departamental

Para validar este documento acesse o site da UFPel item **Validador de documentos** e informe o código **513421375D**