

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA

**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DOS ERITRÓCITOS EM MAMÍFEROS
DOMÉSTICOS: REVISÃO DE LITERATURA**

ANA CAROLINE VELASQUES FONSECA

Porto Alegre

2021/1

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA**

**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DOS ERITRÓCITOS EM MAMÍFEROS
DOMÉSTICOS: REVISÃO DE LITERATURA**

Autora: Ana Caroline Velasques Fonseca

**Trabalho apresentado à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para a
obtenção da graduação em Medicina
Veterinária**

**Orientadora: Profa. Dra. Stella de Faria
Valle**

PORTO ALEGRE

2021/

Dedico este trabalho à minha mãe, por todo incentivo e por acreditar em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por me proporcionar saúde e força ao longo da minha trajetória. Agradeço à minha família, meus pais e irmãos, que permitiram e incentivaram os meus estudos ao longo desses anos.

Por não terem questionado minha escolha e compreenderem todo o tempo que dediquei a faculdade, por sempre estarem ao meu lado me apoiando, sem críticas ou julgamentos. Agradeço especialmente a minha mãe, Joana Velasques. Espero poder retribuir sempre. Agradeço à minha amiga de muitos anos Tamires Corrêa por sempre acreditar em mim e me incentivar. Agradeço ao Luiz Soares pelo apoio e por tornar esse período mais fácil.

Aos meus amigos, com quem dividi tempo, risadas e estresses diários nesses anos, muito obrigada pelo auxílio, companheirismo e pelas palavras de apoio. Agradeço também a todos os professores e colegas que participaram da minha formação. Em especial, agradeço a Prof^ª. Dr^ª. Stella de Faria Valle por aceitar o convite de me orientar e pela sua dedicação, me auxiliando ao longo deste trabalho.

RESUMO

O hemograma é o exame complementar mais requisitado na rotina clínica veterinária para observar alterações hematológicas, tanto na série vermelha quanto na série branca. A interpretação da morfologia eritrocitária faz parte desse exame e seu conhecimento é fundamental não só pelo patologista como também pelo clínico veterinário. Sabe-se que a morfologia normal eritrocitária nos mamíferos domésticos é de um disco bicôncavo anucleado. Contudo, alterações na morfologia ocorrem em situações específicas e podem auxiliar o médico veterinário na determinação do diagnóstico, uma vez que podem sinalizar e apontar diferentes doenças. Além disso, algumas alterações são mais comuns em uma determinada espécie, enquanto é rara em outras. Dessa forma, o objetivo dessa revisão bibliográfica é abordar as diferentes alterações morfológicas dos eritrócitos nos mamíferos domésticos, trazendo características morfológicas, imagens e as principais causas das mesmas de modo a diferenciá-las. Para isso, assuntos como eritropoiese, metabolismo eritrocitário e membrana eritrocitária também serão abordados.

Palavras-chave: Alterações eritrocitárias, Esfregaço sanguíneo, Anemia

ABSTRACT

The blood count is the most requested complementary exam in the veterinary clinical routine to observe hematological alterations, both in the red and white series. The interpretation of the erythrocyte morphology is part of this exam and its knowledge is essential not only for the pathologist but also for the veterinarian. It is known that the normal erythrocyte morphology in domestic mammals is an anucleated biconcave disc. However, format changes occur in specific situations and can help the veterinarian in determining the diagnosis, since they can signal and point out different diseases. Also, some changes are more common in a particular species, while it is rare in others. Thus, the objective of this literature review is to address the different morphological changes of erythrocytes in domestic mammals, bringing morphological characteristics, images and their main causes in order to differentiate them. For this, subjects such as erythropoiesis, erythrocyte metabolism, erythrocyte membrane will also be addressed.

Keywords: Erythrocyte changes, Blood smear, Anemia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Modelo simplificado da hematopoiese.....	18
Figura 2 - Esquema da maturação eritroide.....	19
Figura 3 - Reticulócitos no sangue do gato com anemia regenerativa.....	20
Figura 4 - Esquema simplificado da degradação da hemoglobina.....	25
Figura 5 - Metabolismo da bilirrubina.....	26
Figura 6 - Eritrócitos normais animais domésticos.....	28
Figura 7 - Preparação do esfregaço sanguíneo.....	32
Figura 8 - Esfregaço de sangue de um cão mostrando numerosos torócitos.....	33
Figura 9 - Artefatos refringentes em esfregaço de sangue bovino.....	34
Figura 10 - Representação esquemática de esfregaço sanguíneo.....	35
Figura 11 - Formação de <i>rouleaux</i> em esfregaço de sangue felino (setas).....	39
Figura 12 - Esfregaço sanguíneo de um cão com anemia hemolítica imunomediada e intensa aglutinação.	40
Figura 13 - Esfregaço sanguíneo de cão com presença de anisocitose,.....	41
Figura 14 - Esfregaço de sangue de um cão com anemia ferropriva.....	42
Figura 15 - Eritrócitos fantasmas (setas).....	43
Figura 16 - Presença de anisocitose e eritrócitos policromatofílicos em cão.....	44
Figura 17 - Codócitos cães (Setas).....	47
Figura 18 - Esfregaço de sangue de um cão.....	48
Figura 19 - Esfregaço sanguíneo de cão com numerosos leptócitos.....	49
Figura 20 - Esfregaço de sangue periférico com excentrócitos (setas) de um cão doméstico.....	50
Figura 21 - Esfregaço de sangue periférico com equinócitos (setas) de um cão doméstico.....	51
Figura 22 - Eliptócitos (setas) em esfregaço sanguíneo de um gato.....	52
Figura 23 - Ceratócitos em esfregaço sanguíneo de um gato.....	53
Figura 24 - Esfregaço de sangue periférico de um cão doméstico com presença de esquistócitos.....	54
Figura 25 - Desenho da formação de esquistócitos e microesferócitos.....	55
Figura 26 - Esferócito em esfregaço de sangue periférico de um cão doméstico.....	55
Figura 27 - Picnócitos em esfregaço sanguíneo de um cavalo.....	56
Figura 28 - Estomatócitos com áreas alongadas de palidez central no sangue.....	57
Figura 29 - Esfregaço de sangue periférico de um cão doméstico com presença de acantócitos (seta).....	58
Figura 30 - Esfregaço de sangue de um cão mostrando pontilhado basofílico (seta).....	59
Figura 31 - Corpúsculos de Heinz em diferentes colorações de esfregaço sanguíneo.....	60
Figura 32 - Cristais de hemoglobina em esfregaços de sangue.....	62
Figura 33 - Esfregaço de sangue periférico de um cão doméstico com corpúsculos de Howell-Jolly ..	62
Figura 34 - Esfregaço de sangue de um cão com grânulos sideróticos e corpúsculos de Howell-Jolly.....	63

Figura 35 - Esfregaço de sangue periférico de um cão doméstico com eritrócitos nucleados.....	64
Figura 36 - Esfregaço de sangue de cães com babesiose.	66
Figura 37 - Esfregaço sanguíneo de um gato com citauxzoonose terminal.	67
Figura 38 - Eritrócitos parasitados por <i>Rangelia vitalii</i> (Setas).....	68
Figura 39 - Esfregaço de sangue de uma vaca anêmica com anaplasnose.	68
Figura 40-Organismos <i>Mycoplasma haemofelis</i> com coloração azul/púrpura na superfície dos eritrócitos de dois gatos com infecção natural	71
Figura 41 - Corpúsculo de Lentz em hemácia	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação semiquantitativa da morfologia eritrocitária.....	36
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

2,3 DPG	2,3-Difosfoglicerato
ATP	Adenosina Trifosfato
BFU-E	Burst Forming Unity-Erythroid
CFU-E	Colony Forming Unity-Erythroid
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CLP	Progenitor Linfoide Comum
CMP	Progenitor Mieloide Comum
CO	Monóxido De Carbono
CO ₂	Dióxido De Carbono
Cu	Cobre
EDTA-K ₂	Ácido Etilenodiamino-Tetracético Dipotássico
EP	Erythroid Progenitor
Epo	Eritropoietina
EpoR	Receptor Epo
ER	Eritrócitos
Fe	Ferro
Fe ²⁺	Ferroso
Fe ³⁺	Férrico
fL	Fentolitros
GM-	CSF Colônia Granulocítica-Monocítica
GMP	Granulocyte-Monocyte Progenitor
H ⁺	Íon hidrogênio
Hb	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HCO ³⁻	Íon Bicarbonato
HIF	Hypoxia Inducible Factor
HSCs	Hematopoietic Stem Cells
IL-3	Interleucina 3
LACVet	Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias
MkEP	Megakaryocyte-Erythroid Progenitor
MkP	Megakaryocyte Progenitor
O ₂	Oxigênio

PC	Fosfatidilcolina
PE	Fosfatidiletanolamina
PO ₂	Pressão parcial de oxigênio
RDW	Red Cells Distribution Width
REPs	Células Produtoras de Eritropoietina Renal
SM	Esfingomiéline
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
VCM	Volume Corpuscular Médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Eritropoiese.....	16
2.1.1 Eritropoietina e as fases da eritropoiese	16
2.1.2 Reticulócitos	19
2.1.3 Contagem de reticulócitos	21
3 Função do eritrócito	22
3.1 Hemoglobina.....	22
4 destruição dos eritrócitos	24
4.1 Metabolismo da bilirrubina.....	25
4.2 Ferro.....	26
4.2.1 Metabolismo do Fe.....	27
5 MORFOLOGIA NORMAL ERITROCITÁRIA	28
5.1 Membrana eritrocitária	29
5.1.1 Composição lipídica da membrana eritrocitária.....	29
5.1.2 Composição proteica da membrana eritrocitária.....	29
6 metabolismo eritrocitário	30
7 Esfregaço sanguíneo	31
7.1 Artefatos	33
8 ALTERAÇÕES ERITROCITÁRIAS	35
8.1 Índices eritrocitários	36
8.1.1 Volume Corpuscular Médio (VCM)	36
8.1.2 Hemoglobina Corpuscular Média (HCM)	37
8.1.3 Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM)	37
8.2 Alterações de distribuição eritrocitária.....	38
8.2.1 <i>Rouleaux</i>	38
8.2.2 Aglutinação.....	39
8.3 Alterações de coloração.....	40
8.3.1 Policromasia ou policromatofilia	40
8.3.2 Hipocromasia ou hipocromia	41
8.3.3 Eritrócitos fantasmas (<i>Ghost cells</i>).....	43
8.4 Alterações de tamanho	43
8.4.1 Anisocitose	44
8.4.2 Microcitose	45
8.4.3 Macrocitose.....	46

8.5 Alterações de formato	46
8.5.1 Codócitos	47
8.5.2 Dacriócitos	47
8.5.3 Leptócitos	48
8.5.4 Excentrócitos	49
8.5.5 Equinócitos (eritrócitos crenados).....	50
8.5.6 Eliptócitos (ovalócitos).....	52
8.5.7 Ceratócitos	52
8.5.8 Esquistócitos	53
8.5.9 Esferócitos	55
8.5.10 Picnócito	56
8.5.11 Estomatócitos	57
8.5.12 Acantócitos	58
9 INCLUSÕES ERITROCITÁRIAS	58
9.1 Pontilhado basofílico	58
9.2 Corpúsculo de Heinz	59
9.3 Cristais de hemoglobina	61
9.4 Corpúsculos de Howell-Jolly.....	62
9.5 Grânulos sideróticos ou corpúsculos de Pappenheimer.....	63
10 ERITRÓCITOS NUCLEADOS	64
11 ORGANISMOS ERITROCITÁRIOS	65
11.1 Piroplasmas.....	65
11.2 Espécies do gênero Babesia e Theileria	65
11.3 <i>Cytauxzoon</i> spp.	66
11.4 Rangeliose	67
12. Anaplasma spp.....	68
12.1 <i>Mycoplasma</i> spp.....	69
11.5 Inclusão do Vírus da Cinomose	71
12 CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS	74

1 INTRODUÇÃO

A avaliação das alterações morfológicas das hemácias é uma etapa indispensável e muitas vezes crítica do esfregaço sanguíneo, uma vez que auxilia a identificar inúmeros distúrbios em animais domésticos (BARGER, 2010). Esta análise pode indicar, por exemplo, perda crônica de sangue, condições imunomediadas ou doenças envolvendo órgãos selecionados (ZABOLOTZKY; WALKER, 2020). Por ser um tema relevante para a análise laboratorial, é um assunto inesgotável de pesquisa, catálogo e organização.

Algumas alterações morfológicas são inespecíficas e possuem pouca relevância clínica, a menos que estejam em grandes quantidades, incluindo codócitos, equinócios, anisocitose, eliptócitos e leptócitos. Outras alterações, no entanto, são comumente vistas em determinadas patologias e estão associadas a condições mais específicas, incluindo policromasia, hipocromasia, microcitose, esferocitose, rouleaux, aglutinação, corpúsculos de Heinz e inclusões virais (BRAZZEL, 2013).

Para abordar o tema, assuntos relacionados aos eritrócitos serão citados ao longo do trabalho. A eritropoiese é a etapa inicial e é importante compreender o processo de produção e maturação de hemácias. Sobretudo porque a presença de eritrócitos grandes e imaturos no esfregaço sanguíneo pode indicar resposta eritropoiética regenerativa (ZABOLOTZKY; WALKER, 2020). Outros indicadores de resposta medular incluem a presença acentuada de reticulócitos, policromasia, anisocitose, eritrócitos nucleados e corpúsculos de Howell-Jolly (HARVEY, 2012)

Algumas anormalidades podem ser consequência da interferência no metabolismo e na função eritrocitária. Estresse oxidativo, devido a uma alteração no metabolismo, por exemplo, pode causar anemia hemolítica por corpúsculos de Heinz ou formação de metemoglobina, que, por sua vez, afeta a função eritrocitária (MERCK; 2014). A morfologia normal do eritrócito e confecção do esfregaço sanguíneo, junto com a formação de artefatos, são importantes, por sua vez, para reconhecer um eritrócito normal e o que pode ser uma alteração sem significado clínico, evitando erros de análise.

Neste sentido, serão abordadas as alterações morfológicas das hemácias, suas características e as principais patologias relacionadas. Para isso, serão divididas quanto a alterações de coloração, tamanho e forma, além das inclusões e principais parasitas eritrocitários.

Por fim, este trabalho reunirá imagens das principais alterações morfológicas encontradas na rotina laboratorial do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVet)

nos períodos de agosto a novembro de 2021. Alterações não vistas na rotina serão retiradas da literatura, buscando auxiliar estudantes, pesquisadores e profissionais relacionados ao tema na busca de referências para suas análises.

A pesquisa será baseada no método de revisão bibliográfica e contará com autores renomados na literatura mundialmente aceita sobre o tema. John W. Harvey, Steven L. Stockham, Mary Anna Thrall e, Anne M. Barger são apenas alguns dos especialistas que enriqueceram os diversos capítulos abordados. A base para essa revisão será fundamentada nos livros de hematologia veterinária. Além disso, artigos relacionados serão aqui citados. Esta monografia não esgotará o assunto, mas esperamos que seja uma fonte relevante para a comunidade veterinária em vista de ser uma possível fonte de pesquisa, em língua portuguesa sobre o assunto.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Eritropoiese

Eritropoiese – de *erythros* (vermelho, em grego) - se refere à produção de glóbulos vermelhos do sangue, ou eritrócitos, cuja principal função é a troca gasosa (oxigênio [O₂] e dióxido de carbono [CO₂]) (ZACHARY; MCGAVIN, 2018). Tal processo pode ser dividido em duas etapas em termos de desenvolvimento e morfologia: primitiva (embrionária) e definitiva (adulta) (BARON; ISERN; FRASER, 2012). A eritropoiese primitiva ocorre no saco vitelino, e mais tarde também no fígado fetal. Quanto à morfologia, os eritrócitos primitivos são maiores, possuem núcleo com cromatina pouco condensada e no citoplasma encontra-se predominantemente a hemoglobina embrionária (HARVEY, 2012). A eritropoiese primitiva é transitória e importante para o suporte às necessidades do embrião. No caso da eritropoiese definitiva, esta ocorre ainda na vida intrauterina, e há uma expansão de células eritroides definitivas decorrentes do crescimento do fígado fetal. Na vida pós-natal, essas células eritroides serão produzidas a partir de células-tronco hematopoiéticas na medula óssea (BARON; ISERN; FRASER, 2012).

2.1.1 Eritropoietina e as fases da eritropoiese

A eritropoietina (Epo) é uma glicoproteína que atua como o principal regulador hormonal da eritropoiese. Além da Epo, outros fatores de crescimento como a Interleucina 3 (IL-3), fator de crescimento semelhante à insulina e fator estimulante de colônia granulocítica-monocítica (GM-CSF) também atuam sobre as células progenitoras eritroides (SHARKEY; HILL, 2010). A Epo é produzida principalmente pelo fígado fetal e pelo rim adulto. Células intersticiais peritubulares renais produzem Epo em resposta à hipóxia renal, que pode ser causada por anemia, má oxigenação do sangue (altitude elevada; doença pulmonar) ou má perfusão renal (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

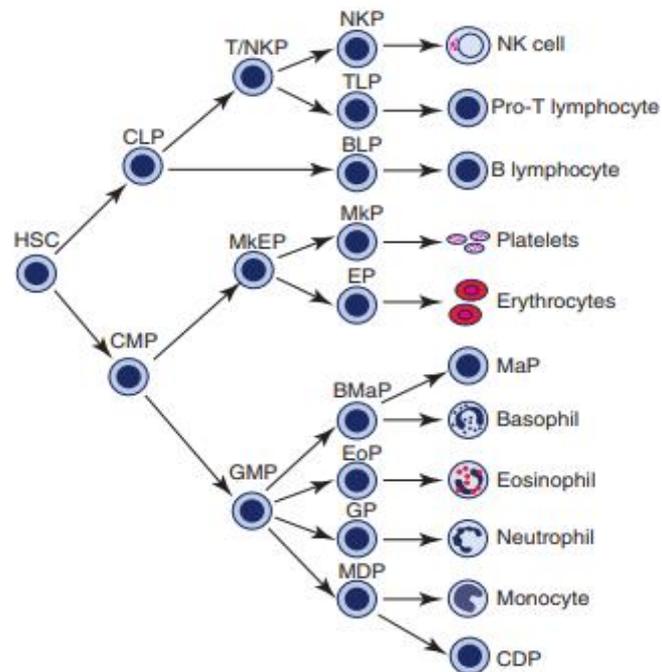
Segundo Souma, Suzuki e Yamamoto (2015), a deficiência de oxigênio ativa as células produtoras de eritropoietina renal (REPs). Essa ativação é regida pelo controle transcricional do gene *Epo*, que é regulado principalmente por fatores induzíveis por hipóxia (HIF), os quais controlam a transcrição do gene EPO em células secretoras de EPO.

O equilíbrio entre o suprimento e a demanda de oxigênio controla com precisão a produção renal de Epo. O hormônio exerce sua função eritropoiética por meio da ligação ao receptor Epo (EpoR). Essa interação medeia principalmente a sinalização de sobrevivência nas células progenitoras e evita a apoptose, causando proliferação e diferenciação e, portanto, ativando a eritropoiese (SOUMA; SUZUKI; YAMAMOTO, 2015).

Na medula óssea, a eritropoiese ocorre nas ilhas eritroblásticas que são aglomerados de células observadas ocasionalmente em amostras citológicas de medula óssea. Essas ilhas se formam ao redor de um macrófago central que auxilia a eritropoiese fornecendo ferro, citocinas hematopoiéticas e provavelmente outros nutrientes. Além disso, fagocitam células defeituosas e núcleos expelidos (SHARKEY; HILL, 2010).

As células sanguíneas de mamíferos são produzidas continuamente a partir de células tronco hematopoiéticas (*hematopoietic stem cells*, HSCs). As HSCs produzem um progenitor linfóide comum (CLP) e um progenitor mieloide comum (CMP) (Figura 1). Acredita-se que o CLP dê origem aos linfócitos e células *natural killer*. Enquanto o CMP, a partir das células progenitoras megacariócitos-eritrócitos (*megakaryocyte-erythroid progenitor*, MkEP) e progenitoras granulócitos-monócitos (*granulocyte-monocyte progenitor*, GMP) irá dar origem às demais células sanguíneas, incluindo macrófagos, mastócitos, células dendríticas e monócitos. Com relação aos eritrócitos, as MkEP darão origem às células progenitoras dos megacariócitos (*megakaryocyte progenitor*, Mkp) e às células progenitoras eritroides (*erythroid progenitor*, EP). A célula progenitora eritroide mais antiga, o eritrócito de formação de explosão (*burst forming units – Erythroid*, BFU-E), se diferencia no eritrócito da unidade formadora de colônia (*colony forming units – Erythroid*, CFU-E) o qual poderá dar origem aos rubriblastos. (HARVEY, 2012).

Figura 1 - Modelo simplificado da hematopoiese

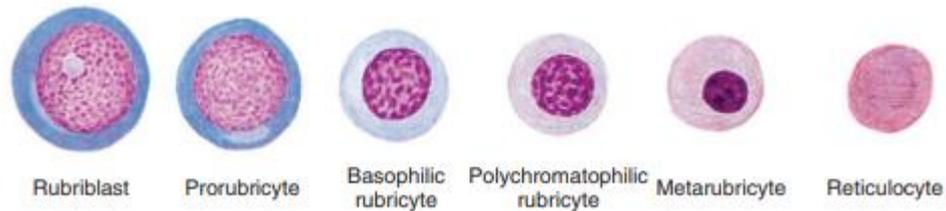


Fonte: Harvey (2012, p. 36)

Legenda: As células sanguíneas de mamíferos são produzidas continuamente a partir das HSC, célula-tronco hematopoiética; CLP, progenitor linfoide comum; CMP, progenitor mieloide comum; T / NKP, progenitor de células Natural Killer e de linfócitos T; MkEP, progenitor megacariócito-eritróide; GMP, progenitor de granulócito-monócito; NKP, progenitor de célula natural killer; TLP, progenitor de linfócitos T; BLP, progenitor de linfócitos B; Mkp, progenitor de megacariócitos; EP progenitor eritróide; BMaP, progenitor basófilo-mastócito; EoP, progenitor de eosinófilos, GP, progenitor de granulócitos; MDP, progenitor de células monócito-dendríticas; NK, Natural Killer; MaP, progenitor de mastócitos; CDP, progenitor dendrítico comum.

Segundo Harvey (2012), a primeira célula reconhecível da série eritroide, em esfregaço de medula óssea é o rubriblasto. A produção de um rubriblasto inicia uma série de divisões maturacionais até chegar ao eritrócito maduro (Figura 2). Dessa forma, a série eritrocitária inclui rubriblastos seguida de prorubricitos, rubricitos basofílicos, rubricitos policromatofílicos, metarubricitos e eritrócitos policromatofílicos (reticulócitos).

Figura 2 - Esquema da maturação eritroide



Fonte: Harvey (2012, p. 40)

À medida que os precursores eritroides amadurecem, as células tornam-se menores, a proporção núcleo:citoplasma diminui, o citoplasma torna-se menos basofílico e mais policromatofílico e a cromatina nuclear torna-se condensada. Em mamíferos, o núcleo é extrusado antes da maturação em um eritrócito maduro (OLVER, 2010).

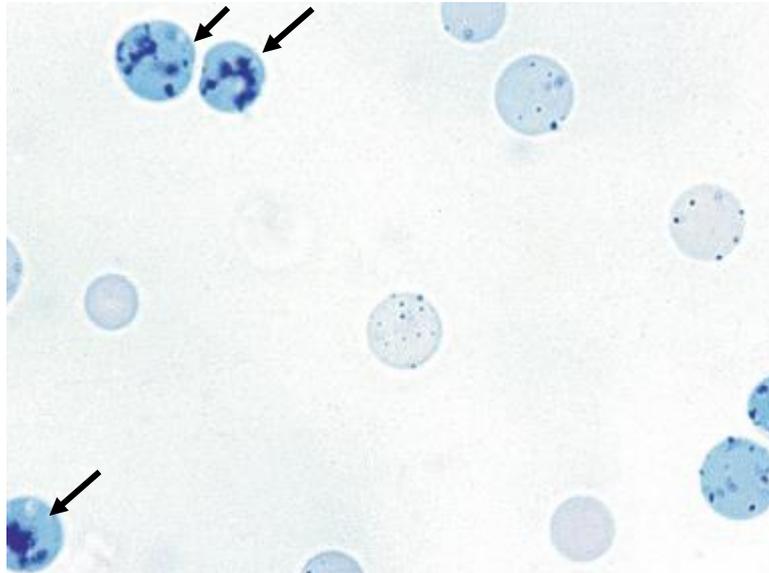
2.1.2 Reticulócitos

Os reticulócitos são as células de maturação anteriores ao eritrócito maduro, essas células iniciam sua maturação na medula óssea e finalizam na circulação sanguínea e no baço. (ZACHARY; MCGAVIN, 2018).

Essas células são anucleadas e possuem retículos compostos por RNA, mitocôndria e organelas, que são visíveis em esfregaços sanguíneos corados com corantes supravitais tais como o novo azul de metileno e o azul de cresil brilhante (COWGILL; NEEL; GRINDEM, 2003).

Há uma classificação quanto aos reticulócitos em agregados ou pontilhados (figura 3). Os reticulócitos agregados são maiores e mais imaturos com retículo grosseiramente aglomerado. Em contrapartida, os pontilhados são menores e possuem três ou mais grânulos de RNA residual (COWGILL; NEEL; GRINDEM, 2003).

Figura 3 - Reticulócitos no sangue do gato com anemia regenerativa.



Fonte: Harvey (2017, p. 531)

Legenda: Na figura acima é possível observar três reticulócitos com agregados de RNA de coloração azul (setas) sendo, a maioria das células restantes reticulócitos pontilhados contendo inclusões discretas semelhantes a pontos. (Coloração: novo azul de metileno)

Os reticulócitos são indicativos da atividade da medula óssea e normalmente se encontram na circulação sanguínea de cães saudáveis, gatos e suínos. Em contrapartida, ovelhas, vacas, cabras apresentam reticulócitos circulantes apenas durante uma resposta regenerativa à anemia (BALAN; McCULLOUGH; O'BRIEN, 2019).

Estudos recentes demonstram que os reticulócitos em cavalos podem ser medidos, embora em números menores se comparados com outras espécies. Segundo Balan, McCullough e O'Brien (2019), esses números são ligeiramente aumentados por parâmetros como raça e idade, algumas doenças como a cólica e em anemias acentuadas, sendo que o seu uso clínico é limitado a anemias acentuadas.

A hipótese para esta falta de diferença na contagem de reticulócitos no cavalo é de que o baço deste animal possui papel importante sobre a massa eritroide e maturação dos reticulócitos. Em cavalos com anemia, a reposição de eritrócitos é amplamente mediada pelo baço, enquanto em outras espécies é a medula óssea que tem esse papel. Isso provavelmente explica por que os reticulócitos não estão aumentados na anemia equina.

2.1.3 Contagem de reticulócitos

A coloração do RNAm nos ribossomos dos reticulócitos é o princípio básico para identificação dos mesmos, diferenciando-os de eritrócitos maduros e nucleados. Em metodologias automatizadas, os reticulócitos podem ser divididos em subgrupos dependendo da quantidade de RNAm que possuem, sendo que aqueles com mais RNAm são ditos reticulócitos mais jovens. Diferentes métodos de detecção irão se basear na quantidade de RNAm ou no número de pontos de material ribossomal para determinar se é um reticulócito ou não. Reticulócitos pontilhados podem não ser detectados em algumas metodologias automatizadas, sendo que células com um ou dois pontos de material ribossomal não são classificadas (TVEDTEN; MORITZ, 2010).

As amostras para a contagem de reticulócitos são de sangue anticoagulado, geralmente em EDTA (ácido etilenodiaminotetracético). O protocolo para contagem manual consiste na mistura de volumes iguais da amostra sanguínea e de azul cresil brilhante ou novo azul de metileno. Após isso, a mistura é incubada por 10 a 20 minutos em temperatura ambiente e em seguida os esfregaços podem ser confeccionados. Após a secagem do esfregaço, na avaliação microscópica, é realizada a contagem (SMITH, 2013).

Quanto à contagem manual dos reticulócitos, a porcentagem é dada pelo número de reticulócitos entre 1000 eritrócitos totais \div 10. (VALENCIANO; COWELL, 2020). Esta porcentagem varia entre as espécies. Geralmente, em gatos, os reticulócitos só são liberados da medula depois que estão maduros em reticulócitos pontilhados. Logo, menos de 0,4% de reticulócitos agregados, mas até 10% dos reticulócitos pontilhados são encontrados no sangue de gatos saudáveis devido ao longo tempo de maturação dos mesmos. Bovinos e caprinos geralmente não apresentam reticulócitos no sangue periférico, contudo, um pequeno número do tipo pontilhado (0,5%) pode ser visto em ovinos adultos (HARVEY, 2012). Nos cães os valores podem chegar até 1.5% (RIZZI, T.E. *et al*, 2010). E, em suínos a média é de 0,4%, podendo chegar a 1% (THORN, C.E, 2010)

3 FUNÇÃO DO ERITRÓCITO

Os eritrócitos são responsáveis pelo transporte de oxigênio e dióxido de carbono pelos tecidos (REBAR, 2000). Além de realizar as trocas gasosas, também atuam no tamponamento de íons de hidrogênio (H^+) (HARVEY, 2012).

O conteúdo de O_2 no sangue depende de fatores como o conteúdo de hemoglobina (Hb) no eritrócito e sua afinidade pelo O_2 , assim como da pressão parcial de oxigênio dissolvido ($PaPO_2$). Fatores como aumento de H^+ , CO_2 , temperatura e, na maioria dos mamíferos, a enzima 2,3-difosfoglicerato (2,3 DPG) diminuem a afinidade da hemoglobina pelo O_2 . (HARVEY, 2012).

O CO_2 , por sua vez, pode ser transportado nas hemácias pela hemoglobina por meio da reação dos grupos amino das cadeias de hemoglobina e formação de carbaminohemoglobina. No entanto, a maior parte do CO_2 na circulação é transportada como íons bicarbonato (HCO^3), na reação catalisada pela enzima anidrase carbônica, de CO_2 com H_2O seguida pela desprotonação de H_2CO^3 em água (KUHN, *et al.*, 2017).

3.1 Hemoglobina

A Hb é um tetrâmero composto por quatro cadeias polipeptídicas de globina, duas α e duas β , ligadas a um grupo heme (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). Cada grupo heme contém um átomo de Fe, no estado ferroso (Fe^{2+}), que se combina de modo reversível a uma molécula de oxigênio (REECE; ROWE, 2020).

A Hb (com Fe^{2+}) transporta O_2 dos pulmões para os tecidos (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Devido à presença de hemoglobina no eritrócito, o sangue é capaz de transportar cerca de 60 vezes mais oxigênio do que poderia ser transportado apenas em solução (REECE; ROWE, 2020).

Quando o CO_2 se difunde para dentro dos eritrócitos, a anidrase carbônica catalisa sua reação com H_2O para formar H^+ e HCO^{3-} . Sendo assim, a Hb age como um tampão ($H^+ + Hb \rightarrow HHb$) para remover o H^+ e o HCO^{3-} se difunde da célula para o plasma. Quando os eritrócitos retornam para os pulmões, as reações são revertidas, e o CO_2 é liberado para expiração. A maior parte do CO_2 formado nos tecidos é transportada para os pulmões por este sistema. Outro meio de transporte de CO_2 para os pulmões se dá quando o este se difunde para dentro dos eritrócitos, e parte dele se liga à Hb para formar carbamino-hemoglobina (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

A síntese de hemoglobina acontece em uma série de reações nos precursores eritroides, de rubriblastos até a fase de reticulócitos, onde diminuem essa síntese até se tornarem eritrócitos maduros. Para a formação da molécula de hemoglobina ocorrem três etapas, incluindo uma série de reações de porfirina, incorporação do Fe^{2+} na protoporfina IX formando heme e a junção de quatro moléculas de globina a quatro ferri-heme. A ácido 5-aminolevulínico-sintetase é a enzima limitante de velocidade. As taxas de síntese do heme e da globina estão equilibradas e reguladas entre si. Se um precursor possui pouco heme e o Fe^{2+} se encontra disponível, a síntese de heme e de globina deverá aumentar (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Além disso, a síntese das cadeias α e β é coordenada. O excesso de cadeias α ou β inibem sua própria síntese enquanto estimulam a síntese da outra cadeia (OLVER *et al.*, 2010).

A metemoglobina é uma forma de hemoglobina e se forma quando o ferro da hemoglobina é oxidado do estado Fe^{2+} para o Fe^{3+} . A cada dia, cerca de 3% da hemoglobina (Fe^{2+}) é oxidada em metemoglobina (Fe^{3+}). A metemoglobina se forma em níveis muito mais elevados na presença de compostos oxidativos e é incapaz de se ligar ao O_2 . Assim, seu aumento no organismo resultaria em hipoxemia. Para prevenir a hipoxemia, é necessário que metemoglobina seja reduzida à hemoglobina funcional (HARVEY, 2012).

4 DESTRUÇÃO DOS ERITRÓCITOS

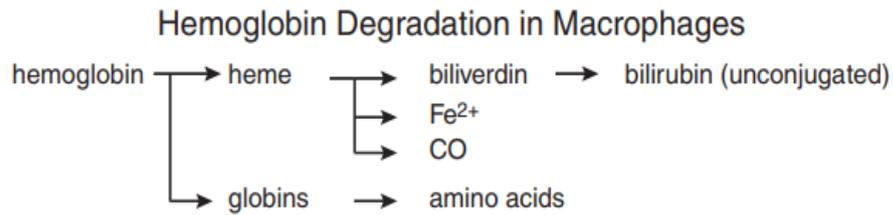
Antes de serem removidos da circulação sanguínea pelos macrófagos, os eritrócitos circulam no sistema vascular por um longo tempo, que varia entre as espécies. Em caninos, a média de vida dos eritrócitos é de 100 dias, nos gatos 70 dias, em equinos e bovinos 150 dias. (HARVEY, 2012). A remoção de eritrócitos danificados ou velhos ocorre principalmente no baço. Contudo, os macrófagos fixos e livres na circulação, tecidos e fígado também participam (VOIGT; SWIST, 2011).

A destruição eritrocitária pode ocorrer no compartimento tecidual por macrófagos (hemólise extravascular), sendo esse o principal, ou no compartimento vascular (hemólise intravascular). A hemólise intravascular pode ocorrer quando os eritrócitos sofrem lesões na membrana por diversas causas como calor, exposição a toxinas ou forças mecânicas devido a distúrbios no sistema circulatório como turbulência causada por válvula cardíaca deficiente, por exemplo. Independente da causa, na hemólise intravascular há liberação de hemoglobina na circulação e manifestação de hemoglobinúria, hemoglobinemia e hemossiderinúria (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2013).

A degradação da hemoglobina ocorre após a destruição eritrocitária extra ou intravascular. Em condições fisiológicas, a hemólise extravascular ocorre à medida que os eritrócitos envelhecem e são fagocitados por macrófagos esplênicos e a hemoglobina é catabolizada. Na hemólise intravascular, a Hb é liberada na circulação na sua forma livre. O mecanismo de eliminação mais importante, nesse caso, é a ligação da Hb com a haptoglobina seguida pela depuração do complexo pelos macrófagos (OLVER *et al.*, 2010).

Após a fagocitose dos eritrócitos senescentes por macrófagos do baço, fígado ou medula o grupamento heme é retirado das cadeias de globina. O heme é degradado em bilirrubina, Fe^{2+} e monóxido de carbono (CO). As cadeias de globina são degradadas, através de enzimas proteolíticas, em aminoácidos (Figura 4). A bilirrubina é excretada ou degradada e os aminoácidos e o Fe são reciclados (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Figura 4 - Esquema simplificado da degradação da hemoglobina



Fonte: Stockham; Scott (2011, p. 113)

O grupo heme (protoporfirina IX mais o Fe) é oxidado pela enzima heme oxigenase no sistema microsomal, que utiliza O₂ liberando monóxido de carbono (CO) e Fe. O ferro é oxidado de Fe²⁺ a Fe³⁺. O grupo heme sofre quebra da ponte α-meteno (fonte de CO) entre os grupos pirrólicos que tenham resíduos de vinilo (-CH=CH₂). O anel, agora linearizado e sem o ferro, se abre, e o produto da reação é a biliverdina IX, que sofre redução (adição de 2H) pela enzima biliverdina redutase até bilirrubina (DÍAZ GONZÁLEZ; SILVA, 2017).

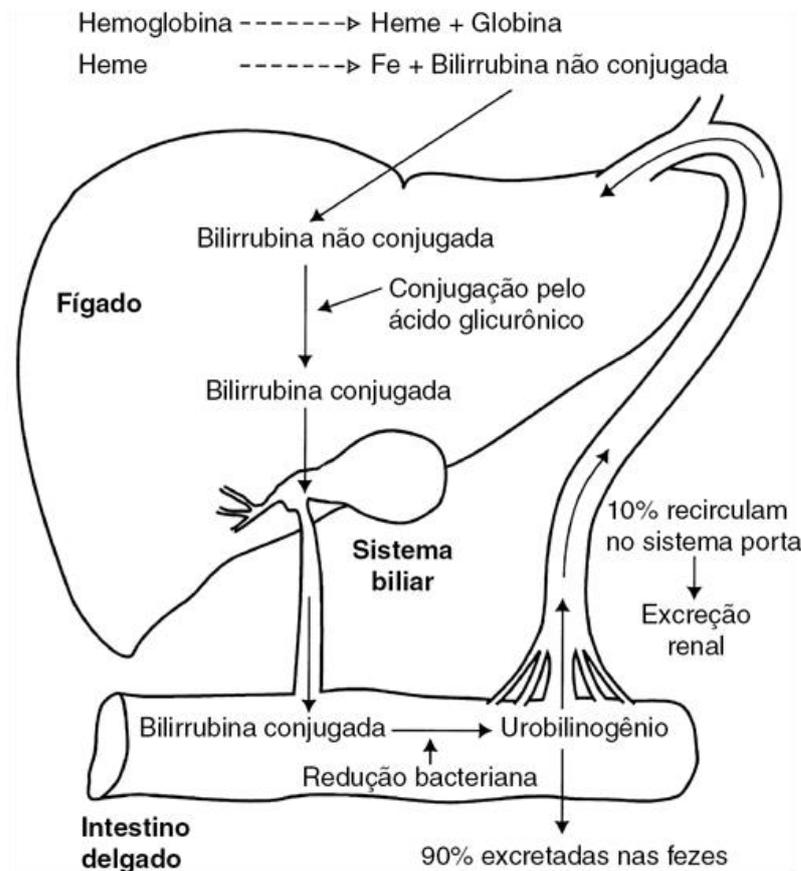
4.1 Metabolismo da bilirrubina

Aproximadamente 80% da bilirrubina produzida no organismo vem da degradação da hemoglobina. Sendo o restante proveniente da degradação de outras proteínas contendo heme (HARVEY, 2012).

O heme é convertido em biliverdina e, em seguida, reduzido à bilirrubina. A bilirrubina livre é liberada no plasma e, por ser insolúvel, se liga à albumina e é transportada até o fígado onde é conjugada com ácido glicurônico para formar glicuronídeo de bilirrubina, principalmente diglicuronídeo, que é hidrossolúvel. Após isso, essa forma é secretada na bile e chega no intestino (REECE; ROWE, 2020).

No intestino, hidrolases bacterianas reduzem a bilirrubina conjugada para formar urobilinogênio (Figura 5) que é reabsorvido ou convertido em estercobilinogênio, que contribui para a coloração marrom-escura das fezes, e é excretado. O urobilinogênio reabsorvido é captado pelos hepatócitos e excretado na bile ou entra na circulação geral e é excretado na urina (CHRISTIAN, 2010).

Figura 5 - Metabolismo da bilirrubina



Fonte: Thrall (2015, p. 354)

Do urobilinogênio produzido no intestino por redução da bilirrubina, 20% é reabsorvido, e o restante é oxidado a urobilina. Do total reabsorvido, 90% é reexcretado pela bile e o restante entra no sangue e pode ser excretado na urina (DÍAZ GONZÁLEZ; SILVA, 2017).

4.2 Ferro

O Fe é de fundamental importância, não só por fazer parte da hemoglobina, mas também por participar de numerosos componentes celulares, tais como citocromos, mioglobina, ferritina e catalase (DÍAZ GONZÁLEZ; SILVA, 2017).

O equilíbrio no metabolismo do Fe é importante, de modo que não haja falta ou excesso. Uma deficiência de Fe acarretará consequências para o organismo, sendo a anemia um exemplo mais relevante. Um excesso, por sua vez, é nocivo para os tecidos, pois o Fe livre promove a síntese de espécies reativas de oxigênio que são tóxicas e lesam proteínas, lipídios e DNA (GROTTO, 2008).

O Fe é armazenado em maior quantidade no fígado e nos rins, principalmente ligado às proteínas ferritina e hemossiderina. Outros órgãos armazenadores são: baço, músculo esquelético, coração, cérebro e medula óssea. Quando ligado à ferritina está na sua forma mais solúvel e disponível que o Fe ligado à hemossiderina. Resumidamente, o Fe está distribuído no organismo em três compartimentos: 65% fazendo parte das metaloproteínas; 20% nas proteínas transportadoras e armazenadoras de ferro (transferrina, ferritina e hemossiderina); e 15% nos tecidos (DÍAZ GONZÁLEZ; SILVA, 2017).

4.2.1 Metabolismo do Fe

O Fe utilizado pelo organismo é obtido de duas fontes principais: da dieta e da reciclagem de eritrócitos senescentes. Como já citado anteriormente, a maior parte do Fe no organismo está associada à hemoglobina, dentro dos eritrócitos. Dessa forma, a fagocitose e degradação dessas células representam uma fonte importante de ferro (GROTTO, 2008).

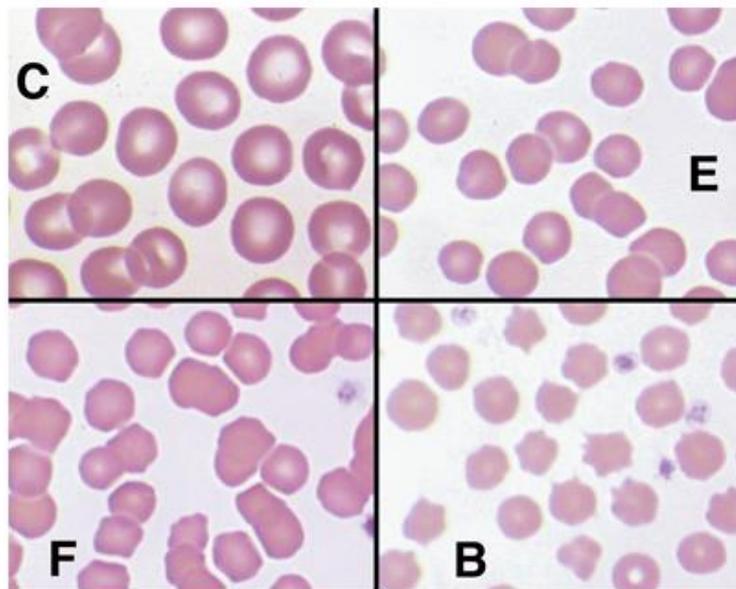
Da dieta, o ferro é absorvido no intestino delgado na sua forma reduzida (Fe^{2+}) e transferido para o plasma o qual se liga à transferrina para seu transporte até as células, sendo essa a principal proteína transportadora de Fe no sangue, a qual leva o mineral na forma oxidada (Fe^{3+}). Nos tecidos, o Fe^{3+} é reduzido a Fe^{2+} para formar parte das metaloproteínas (hemoglobina, ferritina) (DÍAZ GONZÁLEZ; SILVA, 2017).

Uma vez dentro do organismo, o Fe circula em um sistema quase fechado porque pouco é perdido em animais domésticos, a menos que ocorra hemorragia. O Fe plasmático restante é absorvido pelos tecidos não eritroides, principalmente o fígado. Após a fagocitose dos eritrócitos senescente, estes são lisados e a hemoglobina é degradada liberando o Fe para o plasma e uma pequena quantidade pode ser armazenada como ferritina ou hemossiderina nos macrófagos, que é liberada mais lentamente no plasma (HARVEY, 2012).

5 MORFOLOGIA NORMAL ERITROCITÁRIA

A morfologia normal dos eritrócitos varia entre as espécies (Figura 6). Nos mamíferos, os eritrócitos não possuem núcleo nem organelas e, portanto, não são capazes de fazer síntese proteica. Suas proteínas funcionais devem estar presentes até que o eritrócito esteja maduro. As hemácias são compostas por 61% de água, 32% proteína, 7% carboidratos, 0,4% lipídios (OLVER *et al.*, 2010).

Figura 6 - Eritrócitos normais animais domésticos



Fonte: Thrall *et al.* (2015, p. 62)

Legenda: (C) Canino; (E) Equino; (F) felino; (B) Bovino

Nos animais domésticos, os eritrócitos possuem uma forma de disco bicôncavo resultando na palidez central observada em esfregaços sanguíneos (HARVEY, 2012). Esse formato da célula provoca a falsa percepção de uma área mais pálida quando avaliado em esfregaços sanguíneos. Isso ocorre devido à menor quantidade de hemoglobina visualizada na região central do eritrócito. Tal formato é eficiente na troca de oxigênio e na circulação da célula nos vasos sanguíneos. Contudo, em determinadas situações, o formato, a cor e a estrutura dos eritrócitos, além da forma de organização, podem estar alteradas (THRALL *et al.*, 2015).

Com relação às diferenças observadas entre os animais domésticos, os cães possuem eritrócitos maiores, com biconcavidade e palidez central mais pronunciadas (HARVEY, 2017). Algumas espécies não possuem o formato discoide, como os caprinos que possuem eritrócitos

irregulares e achatados. Já os cervídeos possuem eritrócitos em forma de foice e os camelídeos, ovais (ZACHARY; MCGAVIN, 2018, HARVEY2012, THRALL et al 2015).

5.1 Membrana eritrocitária

A membrana da célula eritrocitária é flexível, permitindo que a célula passe por pequenos capilares (VOIGT; SWIST, 2011). Tal membrana é composta, na maioria dos animais, por aproximadamente 40% de proteínas, 35% de lipídios, 20% de água e 6% de carboidratos (OLVER *et al.*, 2010). Dois domínios compõem a membrana eritrocitária: uma bicamada lipídica e o citoesqueleto (SMITH, 1987).

5.1.1 Composição lipídica da membrana eritrocitária

A bicamada fosfolipídica dos eritrócitos geralmente é composta por fosfatidilserina, fosfatidilcolina (PC), esfingomiéline (SM) e fosfatidiletanolamina (PE), entre outros fosfolipídios, entretanto, nem todos os animais possuem essa composição. Quanto à estrutura dos fosfolipídios, estes possuem grupos de cabeça polares que ficam de frente para o exterior hidrofílico e grupos de cauda hidrofóbicos que quando associados fornecem uma barreira hidrofóbica à água (OLVER *et al.*, 2010).

Além disso, moléculas de colesterol não esterificado se encontram intercaladas entre cadeias de ácidos graxos na bicamada e os glicolipídios na camada externa da membrana juntamente com grupos de carboidratos estendendo-se para fora. (HARVEY, 2012). Alterações nessa composição lipídica da membrana, principalmente fosfolipídios e colesterol, podem causar alterações na morfologia normal do eritrócito (THRALL *et al.*, 2015).

5.1.2 Composição proteica da membrana eritrocitária

A membrana eritrocitária é composta por proteínas classificadas estruturalmente em: periféricas ou extramembranárias e integrais ou transmembranárias que atravessam a porção lipídica da membrana, interagindo com a porção hidrofóbica das moléculas lipídicas (MURADOR; DEFFUNE, 2007). As proteínas formam o citoesqueleto da membrana eritrocitária e possuem função no formato e integridade da hemácia (THRALL *et al.*, 2015).

As proteínas citoesqueléticas também são chamadas de periféricas pois não atravessam a bicamada e se encontram ancoradas no lado citoplasmático da membrana. Dentre essas proteínas, a espectrina é a mais abundante. Outras proteínas que fazem parte do citoesqueleto incluem: actina, anquirina, tropomiosina, tropomodulina, aducina e paladina (OLVER *et al.*, 2010). Fazem parte das proteínas integrais a banda 3 e as glicoforinas A, B, C, D, as quais possuem receptores de membrana e antígenos que atuam participando do reconhecimento celular e auxiliam na estabilização do citoesqueleto (MURADOR; DEFFUNE, 2007).

6 METABOLISMO ERITROCITÁRIO

Os eritrócitos maduros dos mamíferos não possuem núcleo, mitocôndrias, ribossomos e retículos endoplasmáticos, sendo, portanto, incapazes de sintetizar ácidos nucleicos, proteínas e lipídios. Além disso, não possuem ciclo de Krebs ou sistema de transporte de elétrons (HARVEY, 2012).

Contudo, mesmo com essas particularidades, o eritrócito necessita de energia na forma de adenosina trifosfato (ATP). Essa energia é fundamental para, por exemplo, manutenção da forma, composição, deformabilidade, transporte ativo de membrana e atividades sintéticas limitadas, como a síntese de glutatona (WEISS; WARDROP, 2010). Para a obtenção dessa energia os eritrócitos dependem da glicose anaeróbica e a glicose é o substrato primário em todas as espécies, exceto o porco, onde a iosina parece ser o principal substrato (HARVEY, 2012).

A via das pentoses fosfato nos eritrócitos é responsável pela defesa contra oxidativos. O NADPH gerado nessa via atua em reações para proteção contra compostos oxidante, fornecendo elétrons, mantendo a glutatona e a tioredoxina em seus estados reduzidos. E é importante para manter a catalase em seu estado funcional. Essa via é importante, pois defeitos na mesma podem deixar as hemácias susceptíveis a danos e alterações. (HARVEY, 2012)

7 ESFREGAÇO SANGUÍNEO

O esfregaço sanguíneo é parte essencial de um hemograma e fornece informações a respeito da morfologia de leucócitos, plaquetas e eritrócitos (KNOLL, 2013). Mesmo com analisadores hematológicos cada vez mais modernos, a análise do esfregaço sanguíneo é indispensável na rotina laboratorial na medicina veterinária. Uma vez que a contagem diferencial de leucócitos pode não ser confiável nos equipamentos, pois especialmente basófilos podem passar despercebidos ou serem confundidos com outras células de defesa, por exemplo. A presença de agregados plaquetários na amostra pode acusar uma falsa trombocitopenia pela não contagem adequada de plaquetas pelo aparelho. Da mesma forma, com relação aos eritrócitos, caso o analisador indique um RDW (*red cell distribution width* – amplitude de distribuição dos eritrócitos) que é uma medida automatizada que reflete a quantidade ou o coeficiente de variação do volume dos eritrócitos, elevado isso poderá ser verificado pela presença de anisocitose no esfregaço. Uma contagem alta de reticulócitos, por sua vez, pode ser vista como um aumento de policromasia. Esses, portanto, são apenas alguns exemplos que relatam a importância de analisar um esfregaço sanguíneo, pois além de verificar alterações na morfologia eritrocitária, alguns achados só podem ser determinados pelo exame microscópico dos mesmos (HARVEY, 2017).

Dado a importância da análise do esfregaço sanguíneo, saber prepara-lo é essencial para se ter confiabilidade nas informações que ele transmite. O uso de lâminas secas e limpas, uma amostra sanguínea fresca são alguns fatores desejáveis para um bom esfregaço, evitando mudanças nas características de coloração e detalhes celulares (VOIGT; SWIST, 2011).

Para a técnica mais usada para preparar um esfregaço sanguíneo, o profissional deve colocar uma lâmina de vidro numa superfície plana (Figura 7) ou em sua mão não dominante, segurando-a pelas bordas (VOIGT; SWIST, 2011). Após a homogeneização do sangue, uma gota é colocada na extremidade de uma lâmina de vidro através de um capilar sanguíneo e por meio de uma segunda lâmina (extensora), num ângulo de 45 graus, é feito o esfregaço com um movimento suave e constante (KNOLL, 2013).

Figura 7 - Preparação do esfregaço sanguíneo



Fonte: Arquivo pessoal

No esfregaço, é essencial a presença de uma monocamada de células intactas na lâmina que irá proporcionar uma avaliação celular adequada no microscópio (THRALL *et al.*, 2015). A espessura do esfregaço sanguíneo é influenciada pelo tamanho da gota de sangue, viscosidade da amostra, velocidade de espalhamento e pelo ângulo da lâmina extensora. Sendo que, quanto maior o ângulo e a velocidade de espalhamento, mais espesso e curto será o esfregaço sanguíneo. Esfregaços de sangue muito espessos podem causar distorção celular, como encolhimento das células, dificultando a identificação. Em esfregaços muito finos, por outro lado, os eritrócitos ficam achatados, perdem sua palidez central e os leucócitos, como linfócitos, são rompidos (HARVEY, 2012).

Depois de preparada a lâmina, o esfregaço é seco agitando-o no ar ou colocando-o em frente a um secador que não deve ser quente, pois pode causar a fragmentação das células. Além disso, uma secagem lenta pode fazer com que as células se contraíam, dificultando a visualização e identificação microscópica (HARVEY, 2012). Por fim, a coloração é realizada em minutos, por meio de colorações do tipo Romanosky como o Wright, ou uma coloração de Wright modificada pela adição de Giemsa, que é usada para avaliação microscópica de elementos celulares. No entanto, colorações rápidas que imitam a coloração clássica de Wright estão disponíveis e são as colorações mais usadas na veterinária (THRALL *et al.*, 2015).

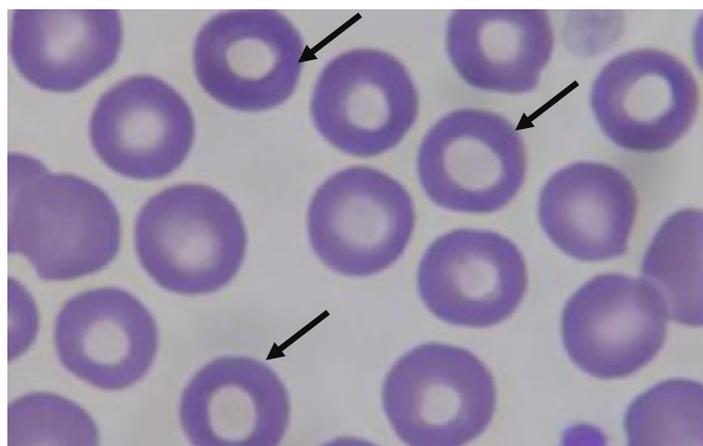
7.1 Artefatos

Ao fazer o esfregaço sanguíneo, problemas de secagem ou fixação podem causar artefatos que se assemelham a alterações patológicas ou que dificultam a avaliação da lâmina. É importante que o veterinário patologista clínico saiba identificar essas alterações a fim de se evitar erros de diagnóstico. Nas colorações de Wright, hemácias laranja-avermelhadas podem ocorrer devido a coloração muito intensa ou tampão com pH ácido. Em contrapartida, colorações de marrom a esverdeado ocorrem devido a preparações espessas, lavagens inadequadas ou se o tampão está com pH alcalino. (REAGAN; ROVIRA; DE NICOLA, 2019).

A secagem também pode causar alterações nos eritrócitos. Os artefatos nesse caso ocorrem quando o esfregaço não é seco o suficiente antes de ser corado. Os eritrócitos apresentarão regiões vazadas, arredondadas ou de meia lua, semelhantes a vacúolos. Precipitados de corantes, por sua vez, precipitam durante o armazenamento, quando a lâmina é incubada por tempo prolongado ou devido ao enxágue insuficiente (ZABOLOTZKY; WALKER, 2020).

Torócitos são eritrócitos com centro abaulado, tendo um formato de rosca (Figura 8). Essa alteração não possui significado clínico e ocorre como um artefato, precisando ser diferenciada da hipocromasia (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Por esse motivo, os critérios para realização do esfregaço devem ser obedecidos.

Figura 8 - Esfregaço de sangue de um cão mostrando numerosos torócitos.

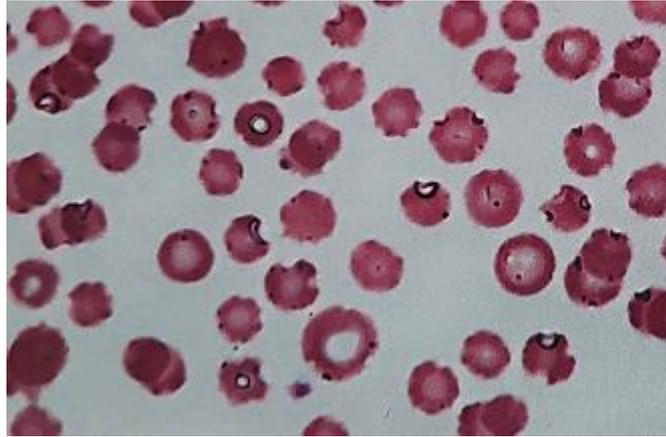


Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: Eritrócitos com borda larga de hemoglobina e falta de hemoglobinização no centro (setas)
(Coloração: Panótipo Rápido, aumento de 100x)

Os artefatos refringentes (Figura 9) são artefatos de técnica que podem ser confundidos com parasitos eritrocitários, o que explica a importância de saber reconhecê-los e não cometer erros. Nesse caso, a característica principal para distinguir artefatos de parasitos é que artefatos possuem tamanhos variados e são refringentes quando o foco do microscópio muda para baixo ou para cima (REAGAN; ROVIRA; DE NICOLA, 2019).

Figura 9 - Artefatos refringentes em esfregaço de sangue bovino.

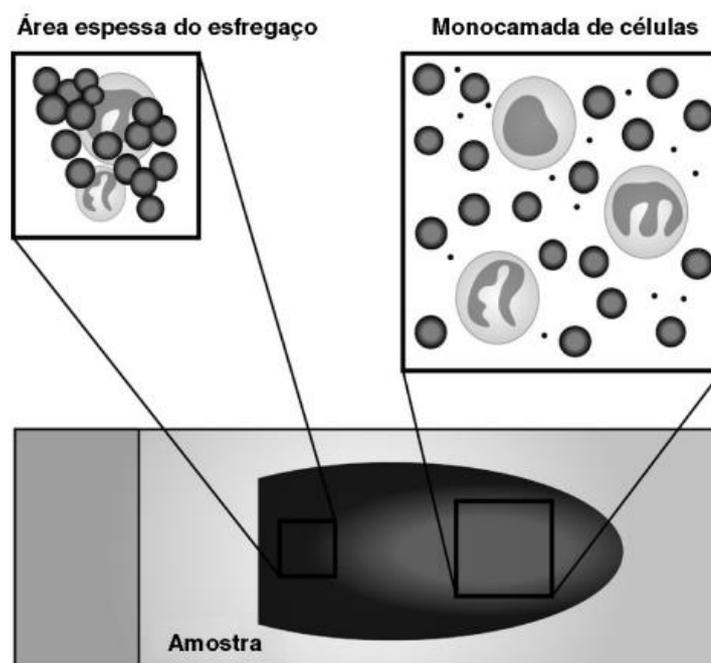


Fonte: Reagan; Rovira; De Nicola (2019, p. 26)
Legenda: (Objetiva 100x)

8 ALTERAÇÕES ERITROCITÁRIAS

As alterações eritrocitárias são visualizadas na avaliação do esfregaço sanguíneo, geralmente durante a contagem diferencial de leucócitos. Para isso, primeiramente é feita uma avaliação geral da lâmina numa objetiva de baixo aumento para procurar alterações como autoaglutinação eritrocitária e células anormais que podem passar despercebidas depois (HARVEY, 2017). Após isso, numa objetiva de maior aumento (100X) em imersão, em movimentos em ziguezague, avalia-se a monocamada do esfregaço sanguíneo (Figura 10), que é a região onde os eritrócitos estão próximos, com aproximadamente metade das células se tocando. Nessa objetiva também é realizada a contagem diferencial de leucócitos, a presença de eritrócitos nucleados é contabilizada separadamente e as alterações morfológicas das hemácias são descritas no laudo (KNOLL, 2013).

Figura 10 - Representação esquemática de esfregaço sanguíneo



Fonte: Knoll (2013, p. 484)

Uma vez que são observadas alterações eritrocitárias no esfregaço, como anisocitose, grau de policromasia e poiquilocitose (eritrócitos com formato anormal) elas devem ser registradas nos laudos. Para isso, o número de células anormais deve ser relatado de maneira semiquantitativa. Algumas referências são usadas para a avaliação semiquantitativa com base

no número médio de eritrócitos por campo numa objetiva de 100x em imersão (Tabela 1). (HARVEY, 2012)

Tabela 1 - Avaliação semiquantitativa da morfologia eritrocitária

	1+	2+	3+	4+
Anisocitose				
Cão	7-15	16-20	21-29	>30
Gato	5-8	9-15	16-20	>20
Bovino	10-20	21-30	31-40	>40
Cavalo	1-3	4-6	7-10	>10
Policromasia				
Cão	2-7	8-14	15-29	>30
Gato	1-2	3-8	9-15	>15
Bovino	2-5	6-10	11-20	>20
Cavalo	Raros	-	-	-
Hipocromasia	1-10	11-50	51-200	>200
Poiquilocitose	3-10	11-50	51-200	>200
Codócitos (cães)	3-5	6-15	16-30	>30
Esferócitos	5-10	11-50	51-150	>150
Equinócios	5-10	11-100	101-250	>250
Outras alterações	1-2	3-8	9-20	>20

Fonte: Adaptada de Harvey (2012, p. 27)

Como citado anteriormente, essa avaliação é realizada na área da monocamada do esfregaço sanguíneo. Em animais gravemente anêmicos, esses campos podem ser escassos, uma vez que os eritrócitos se encontram afastados. Quando os eritrócitos geralmente estão afastados, o número de eritrócitos anormais é contado para dois campos (HARVEY, 2012).

8.1 Índices eritrocitários

São índices calculados na rotina laboratorial, componentes do hemograma e fornecem informações sobre a morfologia e demais aspectos dos eritrócitos.

8.1.1 Volume Corpuscular Médio (VCM)

É um indicador do volume do eritrócito que pode corresponder ao tamanho dos eritrócitos na amostra. Se comparado com os intervalos de referência espécie-específicos, permite classificar os eritrócitos em normocíticos (tamanho eritrocitário dentro dos

parâmetros), macrocíticos (eritrócitos com tamanho acima do intervalo de referência) e microcíticos (eritrócitos com tamanho abaixo do intervalo de referência).

O índice é calculado segundo a equação (SINK; FELDMAN, 2006):

$$\text{VCM} = (\text{hematócrito}/\text{contagem de eritrócitos}) \times 10$$

O volume calculado é dado em fentolitros (fL). Onde o hematócrito é a porcentagem de eritrócitos no sangue total, obtida manualmente (centrifugação) ou por meio de um analisador hematológico automático. (THRALL *et al.*, 2015)

8.1.2 Hemoglobina Corpuscular Média (HCM)

Refere-se ao peso médio de hemoglobina no eritrócito. É calculado segundo a equação (SINK; FELDMAN, 2006):

$$\text{HCM} = (\text{concentração de hemoglobina [Hb]}/\text{contagem de eritrócitos}) \times 10.$$

8.1.3 Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM)

Indica a quantidade média de hemoglobina nos eritrócitos. Quando comparado com os intervalos de referência para determinada espécie, irá permitir classificar os eritrócitos em: normocrômicos (valor dentro da referência) e hipocrômico (valores abaixo da referência e possuem menor concentração média de hemoglobina).

É calculado de acordo com a equação (SINK; FELDMAN, 2006):

$$\text{CHCM} = (\text{concentração de hemoglobina [Hb]}/\text{hematócrito}) \times 100. \text{ O valor é fornecido em g/dL.}$$

A hipercromasia pode ocorrer devido a erros analíticos. Se o tamanho dos eritrócitos estiver abaixo do limiar de detecção do analisador, por exemplo, haverá uma diminuição do hematócrito e aumento do CHCM. A presença de lipemia, hemólise e corpúsculos de Heinz também podem causar hipercromasia devido ao teor falsamente aumentado de hemoglobina (THRALL *et al.*, 2015). Nos casos de hemólise, a hemoglobina está livre no plasma; contudo, o analisador assume que toda a hemoglobina está dentro das células devido ao cálculo utilizado.

Na aglutinação, quando a amostra é analisada por um contador eletrônico de células, também há erros.

Devido ao seu tamanho, grandes agregados eritrocitários não são contados, não sendo considerados eritrócitos, logo eles são excluídos e o hematócrito baixa erroneamente enquanto o CHCM aumenta. A aglutinação não causará essa hipercromasia se o hematócrito for determinado por centrifugação e as amostras forem homogeneizadas adequadamente.

A hipocromasia, por outro lado, pode ocorrer quando há anemia regenerativa e altas concentrações de reticulócitos estão presentes, tendo em vista que estes possuem menos hemoglobina que um eritrócito maduro. A deficiência de Fe também pode levar a diminuição do CHCM, uma vez que o mineral é necessário na síntese da hemoglobina. Cães com estomacitose hereditária terão hipocromasia devido à presença de água nos eritrócitos, diluindo a hemoglobina. O mesmo acontece para outras condições onde isso pode ser visualizado, como na hipernatremia em cães e gatos. (HARVEY, 2012)

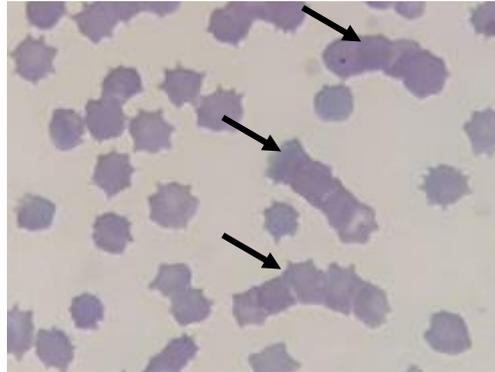
Resumidamente, com base no VCM e CHCM, as anemias serão, por exemplo, hipocrômicas macrocíticas (anemia regenerativa com presença de eritrócitos imaturos); normocíticas normocrômicas (anemias arregenerativas com eritrócitos normais) e anemias hipocrômicas microcíticas (deficiência de Fe). Contudo, é importante levar em consideração que os analisadores podem não calcular o VCM de maneira sensível, pois células com alteração podem não estar em número elevado, deixando os parâmetros dentro dos intervalos de referência (TVEDTEN, H. 2010)

8.2 Alterações de distribuição eritrocitária

8.2.1 Rouleaux

Um *rouleaux* consiste em eritrócitos que se alinham num formato semelhante a pilhas de moedas (Figura 11). Essa alteração é comum em cavalos e gatos saudáveis e a sua formação resulta na sedimentação rápida dos eritrócitos em amostras que permanecem inalteradas. Logo, amostras de sangue desses animais devem ser bem homogeneizadas antes das medições hematológicas (HARVEY, 2017).

Figura 11 - Formação de *rouleaux* em esfregaço de sangue felino (setas).



Fonte: Arquivo pessoal

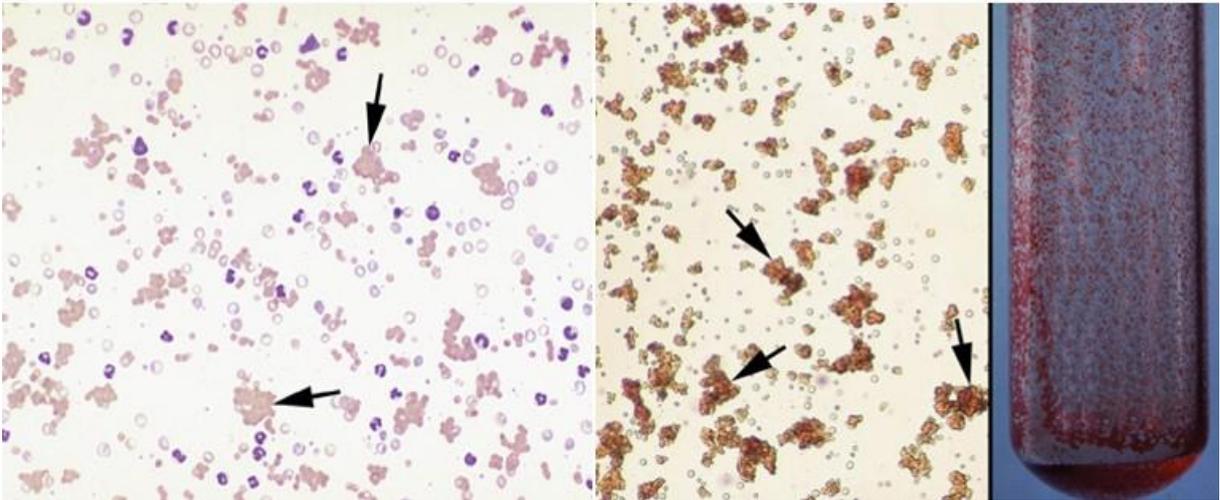
Legenda: (coloração: Panótipo Rápido, aumento de 100x)

A formação de *rouleaux* depende da composição do plasma e da natureza eritrocitária. A carga elétrica da membrana eritrocitária pode afetar a formação de *rouleaux*, já que eritrócitos com menor carga negativa na superfície irão agregar mais facilmente, uma vez que terão força repulsiva eletrostática mais fraca, maior fluidez e são mais deformáveis (HARVEY, 2012). Um exemplo disso são os eritrócitos de cavalos, pois estes possuem carga de membrana eritrocitária diminuída em comparação com outras espécies. Proteínas de alto peso molecular no plasma também afetam essa formação. Hiperglobulinemia e hiperfibrinogênio, por exemplo, podem aumentar a formação de *rouleaux* porque podem mascarar a carga superficial negativa dos eritrócitos (GRONDIN; DEWITT, 2010).

8.2.2 Aglutinação

Diferente do “empilhamento de moedas” do *rouleaux*, na aglutinação há a aglomeração dos eritrócitos em grupos irregulares (Figura 12) (HARVEY, 2012). Isso acontece devido ao aumento de imunoglobulinas, principalmente IgM, na superfície eritrocitária. Ao comparar IgM com IgG, devido a sua natureza pentavalente, a maior distância entre os locais de ligação nas moléculas de IgM torna mais fácil para estas superar as forças repulsivas entre eritrócitos carregados negativamente. Além disso, a imunoglobulina IgM possui 10 locais de ligação ao antígeno em comparação com 2 locais na IgG (HARVEY, 2012). A formação de aglutinação pode ser observada como sinal anemia hemolítica imunomediada e como uma mudança *in vitro* em cavalos tratados com heparina (BARGER, 2010). A distinção entre aglutinação e *rouleaux* pode ser feita usando um teste de diluição do sangue com solução salina. Nessa diluição, os *rouleaux* dispersam, mas a aglutinação não (WALTON, 2013).

Figura 12 - Esfregaço sanguíneo de um cão com anemia hemolítica imunomediada e intensa aglutinação (setas).



Fonte: Thrall *et al.* (2015, p. 61)

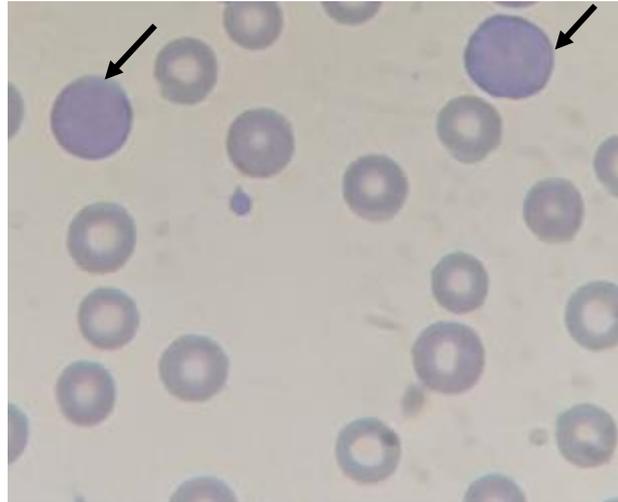
Legenda: (Coloração de Wright em baixa magnificação.) *Esquerda.* O sangue foi misturado com solução salina isotônica e a aglutinação persiste (*setas*). *Direita.* A aglutinação pode ser visualizada macroscopicamente na parede do tubo de coleta de sangue.

8.3 Alterações de coloração

8.3.1 Policromasia ou policromatofilia

Policromasia é uma característica dos eritrócitos imaturos, não nucleados, com RNA citoplasmático suficiente para corar com uma coloração de Wright (STOCKHAM; SCOTT, 2011). A coloração destacada se deve a presença de hemoglobina (vermelha) e ribossomos e polirribossomos (azul). Em cães e suínos, geralmente são vistos números baixos de eritrócitos policromatofílicos (Figura 13), pois estas espécies podem apresentar até 1,5% de reticulócitos, mesmo com hematócrito normal (HARVEY, 2012).

Figura 13 - Esfregaço sanguíneo de cão com presença de anisocitose,



Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: Presença de vários eritrócitos hipocrômicos e dois eritrócitos policromatofílicos (setas) (Panótipo Rápido, aumento de 100x em imersão)

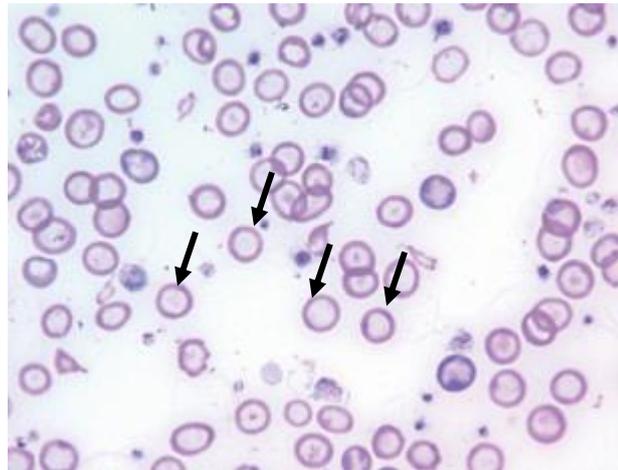
Esfregaços de bovinos, ovinos, caprinos e equinos normais, contudo, não apresentam policromasia porque os reticulócitos com RNAm em quantidade suficiente para conferir uma cor azulada não estão normalmente presentes no sangue nessas espécies (HARVEY, 2012). Os reticulócitos pontilhados dos gatos também não possuem RNA suficientes para que essas células apareçam azuladas nos esfregaços sanguíneos corados. Dessa forma, o aumento de policromasia nessa espécie é um indicativo de aumento de reticulócitos agregados, podendo ser essa uma resposta ao aumento de destruição eritrocitária ou hemorragia (HARVEY, 2017).

O aumento da policromasia pode indicar uma anemia regenerativa. Segundo Barger (2010) quantificar a resposta regenerativa por meio da contagem de reticulócitos é mais sensível porque nem todos reticulócitos são policromatofílicos. Contudo, estudos feitos demonstraram que o uso de policromasia combinado com RDW são bons indicativos de anemia regenerativa em cães. (HODGES; CHRISTOPHER, 2011).

8.3.2 Hipocromasia ou hipocromia

Eritrócitos com diminuição nos níveis de hemoglobina e com um aumento de palidez central são denominados de hipocrômicos (HARVEY, 2017). Nos esfregaços sanguíneos, geralmente apresentam uma pequena borda de hemoglobina de coloração pálida em torno de uma área central aumentada em diâmetro e palidez (Figura 14) (GARLAND, 2011).

Figura 14 - Esfregaço de sangue de um cão com anemia ferropriva.



Fonte: Barger, 2010, p. 146

Legenda: Presença de hipocromasia acentuada.

Eritrócitos hipocromicos (setas) (Wright – coloração Giemsa)

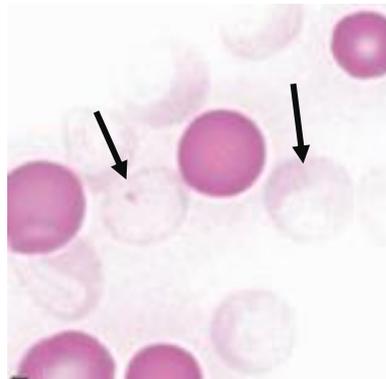
Os verdadeiros eritrócitos hipocrômicos devem ser diferenciados dos torócitos que são artefatos com uma área central incolor, mas a periferia é mais densa, aumentada e avermelhada (HARVEY, 2012). Além disso, nos torócitos, a palidez central ocorre de forma abrupta, e não gradual, no limite da hemoglobina como no eritrócito hipocrômico (BARGER, 2010). O aumento da hipocromasia é observado em casos de deficiência de Fe, geralmente em caninos, suínos e ruminantes. E costuma ser menos proeminente em felinos e equinos, que possuem eritrócitos com menor diâmetro (HARVEY, 2012). Além da deficiência de Fe, a deficiência prolongada de cobre (Cu) e de vitamina B6 também estão entre as causas de hipocromasia (BARGER, 2010). Em cães e gatos, a anemia por deficiência de Fe geralmente ocorre por perda crônica de sangue e quando grave é caracterizada por anemia microcítica, hipocrômica, com resposta regenerativa variável (NAIGAMWALLA; WEBB; GIGER, 2012).

Os ruminantes podem desenvolver deficiência de Cu devido à alimentação ou secundária devido ao alto teor de molibdênio ou sulfato na dieta. Geralmente, os animais afetados apresentam anemia microcítica hipocrômica devido à deficiência funcional de Fe. Nesse caso, há diminuição na produção de proteínas como ceruloplasmina, hefaestina e citocromo oxidase que possuem Cu e são necessárias para o transporte de Fe (WEISS, 2010).

8.3.3 Eritrócitos fantasmas (*Ghost cells*)

Os eritrócitos fantasmas possuem coloração extremamente pálida, com uma pequena quantidade de hemoglobina residual periférica (Figura 15). Geralmente, essa alteração ocorre devido à hemólise intravascular mediada por complemento, onde complexos na membrana formam poros e a hemoglobina extravasa da célula. Quando formado *in vitro*, devido às lesões de confecção do esfregaço, esses eritrócitos geralmente estão distorcidos (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Figura 15 - Eritrócitos fantasmas (setas)



Fonte: Stockham; Scott (2011, p. 882)

Segundo o consenso do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (ACVIM), sobre o diagnóstico de anemia hemolítica, as células fantasmas, se vistas em esfregaços sanguíneos feitos imediatamente após a coleta, fornecem evidência de hemólise intravascular (GARDEN *et al.*, 2019).

8.4 Alterações de tamanho

Os eritrócitos podem possuir um diâmetro menor ou maior que a média, sendo classificados como micrócitos e macrócitos respectivamente. Essa diferenciação pode ser difícil de ser avaliada no esfregaço sanguíneo, mas pode ser indicada pelo valor de VCM (BRAZZEL, 2013).

Em esfregaços sanguíneos, os eritrócitos aparecem de forma bidimensional e o diâmetro da célula é considerado um reflexo do seu tamanho. Contudo, células com um mesmo diâmetro,

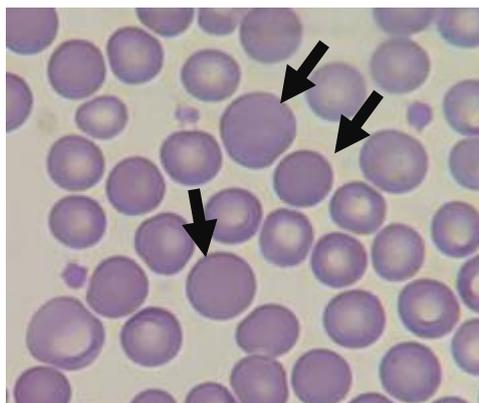
mas com espessuras diferentes, terão volumes diferentes. A espessura é refletida na intensidade da coloração. Assim, uma célula fina será levemente corada e uma célula espessa será intensamente corada (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Dessa forma, alterações no tamanho dos eritrócitos correspondem a alterações no seu diâmetro, mas não necessariamente no seu volume. As células podem parecer menores, mas ter volume normal, por exemplo, esferócitos, enquanto outras células que possuem volume diminuído podem ter diâmetro normal, como os microcíticos hipocrômicos deficientes em Fe. Sendo assim, para se avaliar de fato o tamanho dos eritrócitos é usado o VCM como verdadeiro parâmetro (THRALL *et al.*, 2015).

8.4.1 Anisocitose

Anisocitose refere-se à variação no tamanho dos eritrócitos visualizados nos esfregaços sanguíneos (Figura 16). Pode ocorrer devido à presença de macrócitos, micrócitos ou ambos. Em geral, os animais saudáveis terão uma anisocitose discreta devido a um baixo nível de reticulócitos circulantes, os quais são maiores que os eritrócitos normais (BARGER, 2010). Já em bovinos, a anisocitose é maior do que em outras espécies domésticas normais (HARVEY, 2012).

Figura 16 - Presença de anisocitose e eritrócitos policromatofílicos em cão.



Fonte: Arquivo pessoal
Legenda: eritrócitos policromatofílicos (setas)
(Coloração: Panótipo rápido, 100x)

Frequentemente o aumento da anisocitose estará relacionado à anemia regenerativa, devido à presença dos reticulócitos que possuem tamanho maior que os normais. Contudo, pode ocorrer na diseritropoiese em alguns gatos com anemia não regenerativa (HARVEY, 2012). O aumento de eritrócitos microcíticos também pode causar anisocitose e ocorre em anemias por

deficiência de Fe secundária à perda crônica de sangue em cães. Um aumento da anisocitose também pode ocorrer em transfusões sanguíneas, onde diferentes populações celulares estão presentes (HARVEY, 2012).

O índice RDW é uma medida automatizada que reflete a quantidade ou o coeficiente de variação do volume dos eritrócitos e seu aumento reflete o aumento da anisocitose, seu valor é calculado em analisadores hematológicos de rotina (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Um estudo recente buscou correlacionar o RDW com algumas doenças em cães. Animais com anomalias vasculares hepáticas podem apresentar microcitose, provavelmente devido ao metabolismo alterado do Fe resultante da disfunção hepática, nesse estudo esses cães tiveram RDW aumentado devido à anisocitose. Aqueles com anemia hemolítica imunomediada primária tiveram um VCM aumentado, nesse grupo o RDW aumentado reflete, portanto, a presença de anemia macrocítica regenerativa, a presença de esferocitose nesse caso não foi atribuída a esse aumento uma vez que o volume dessas células normalmente não é diminuído, embora pareçam menores no esfregaço. Na doença renal crônica, os valores de RDW estavam aumentados, nesse caso acredita-se no declínio da produção de Epo, uma hiporresponsividade e formação de eritrócitos com tamanhos diferentes. O mecanismo pelo qual houve aumento do RDW nos casos de pneumonia não é claro, mas a inflamação e o estresse oxidativo têm sido propostos como possíveis causas. No hipotireoidismo, o RDW estava aumentado porém metade dos animais apresentava anemia, provavelmente devido à diminuição da produção de Epo e falta de um efeito estimulador direto dos hormônios tireoidianos na medula óssea, uma vez que atuam aumentando a secreção de Epo (MARTINEZ et al., 2019).

8.4.2 Microcitose

A microcitose ocorre quando há aumento de eritrócitos de menor volume e pode ser refletida através da diminuição do VCM. Além disso, na presença de eritrócitos normocíticos ou microcíticos haverá anisocitose e aumento do RDW (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Entre as causas da microcitose, se encontram a deficiência de Fe, onde as células não conseguem obter um teor normal de hemoglobina. Quando isso ocorre, os precursores eritroides acabam se dividindo continuamente até atingir uma concentração de Hb normal, uma vez que a concentração de Hb não é o suficiente para inibir a mitose, resultando em eritrócitos microcíticos e também hipocrômicos, geralmente. Também, devido a anormalidades no metabolismo do Fe e a sua baixa concentração, cães com *shunt* portossistêmicos podem

manifestar anemia microcítica. Por outro lado, cães das raças como Akita e Shiba Inus normalmente apresentam eritrócitos menores (THRALL *et al.*, 2015).

8.4.3 Macrocitose

Macrócitos são eritrócitos diâmetro aumentado. A macrocitose pode ser indicada pelo aumento do VCM gerado com a análise hematológica automatizada da amostra. Tal alteração é mais comumente vista nas anemias regenerativas, devido ao maior tamanho dos eritrócitos policromatófilicos imaturos. Em esfregaços mal corados essas células podem aparecer normocrômicas. Contudo, a macrocitose normocrômica verdadeira pode ocorrer pela mitose prejudicada dos precursores eritroides, em doenças mielodisplásicas e mieloproliferativas e na FeLV (ZABOLOTZKY; WALKER, 2020).

Outras causas de macrocitose incluem estomatocitose em cães, armazenamento prolongado de sangue, hipernatremia no cão e gato (WILKERSON; MASTRORILLI, 2010). Dentre as causas menos comuns de macrocitose se encontram as doenças hereditárias em Poodle, Malamute do Alasca e em gatos Siameses (THRALL *et al.*, 2015).

A macrocitose é uma condição hereditária que afeta cães da raça Poodle de ambos os sexos. Os cães afetados não são anêmicos, nem apresentam sinais clínicos associados ou reticulocitose. A característica mais distinta é a macrocitose marcada com volumes celulares médios variando entre 85 a 105 fL. Metarrubricitose e corpúsculos de Howell-Jolly podem ser observados (WEISS; WARDROP, 2010).

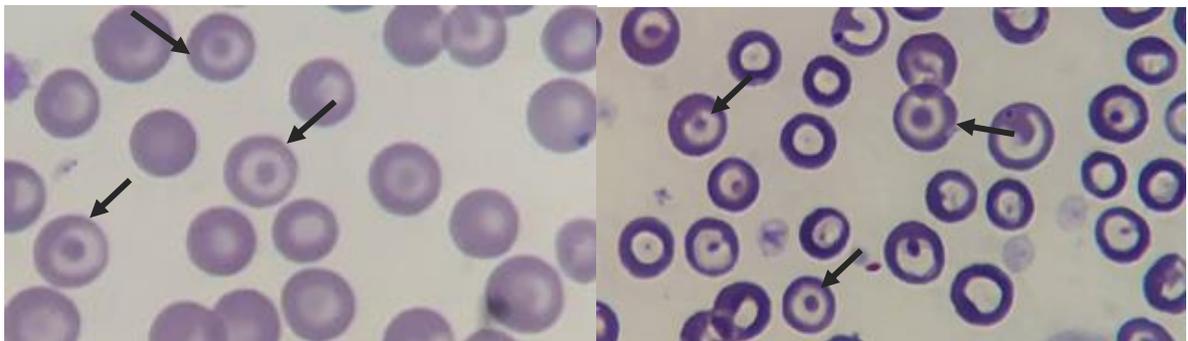
8.5 Alterações de formato

Poiquilocitose é um termo geral, não específico, para variação no formato dos eritrócitos. Alterações na estrutura da membrana, arquitetura da medula óssea e condição da Hb podem resultar em alterações da morfologia eritrocitária. Quanto à poiquilocitose nas espécies, equinócitos são achados comuns em suínos. (BARGER, 2010). Além disso, bovinos e cabras jovens clinicamente normais podem apresentar poiquilocitose. (HARVEY, 2012) Essas alterações, muitas vezes, estão associadas às doenças ou condições específicas e devem ser registradas no laudo pelo médico veterinário.

8.5.1 Codócitos

Codócitos ou células em alvo são eritrócitos com uma área central de Hb rodeada por uma borda pálida com Hb na periferia (Figura 17) (GARLAND, 2011). Assim como os acantócitos, os codócitos possuem um aumento na quantidade de colesterol, resultando em uma área de superfície da membrana aumentada (BARGER, 2010). A codocitose é comumente observada em anemias regenerativas, pois os eritrócitos jovens possuem um excesso de membrana e concentração de Hb diminuída. Também é observada na deficiência de Fe e quando há excesso de membrana nos eritrócitos devido a distúrbios renais, hepáticos e lipídicos (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Em cães, um pequeno número de codócitos pode ser visualizado no sangue normal (HARVEY, 2012) Além disso, em cães a presença de codócitos foi associada à hipercolesterolemia do hipotireoidismo. Contudo, eritrócitos maduros, que também possuem excesso de membrana, podem parecer codócitos grandes (ZABOLOTZKY; WALKER, 2020).

Figura 17 - Codócitos cães (Setas)



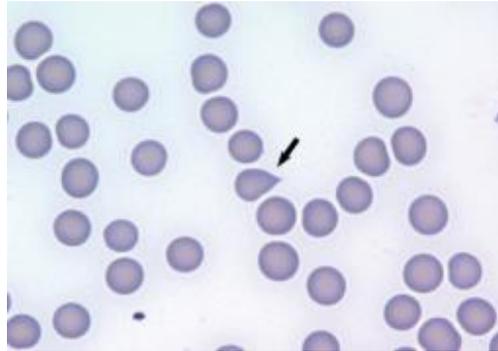
Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: (Coloração: Panótico Rápido, aumento de 100x em imersão)

8.5.2 Dacriócitos

São eritrócitos com formato de lágrima (Figura 18). Elas podem ocorrer em casos onde a membrana eritrocitária é danificada conforme as células passam pelos sinusóides estreitos esplênicos ou medulares. Há relatos em cães com distúrbios mieloproliferativos e hiperesplenismo (BARGER, 2010). Além disso, também foram observados em cães com glomerulonefrite e em cães e gatos com neoplasias mieloides. Nos ruminantes, são observados em animais com deficiência de Fe (HARVEY, 2012).

Figura 18 - Esfregaço de sangue de um cão.



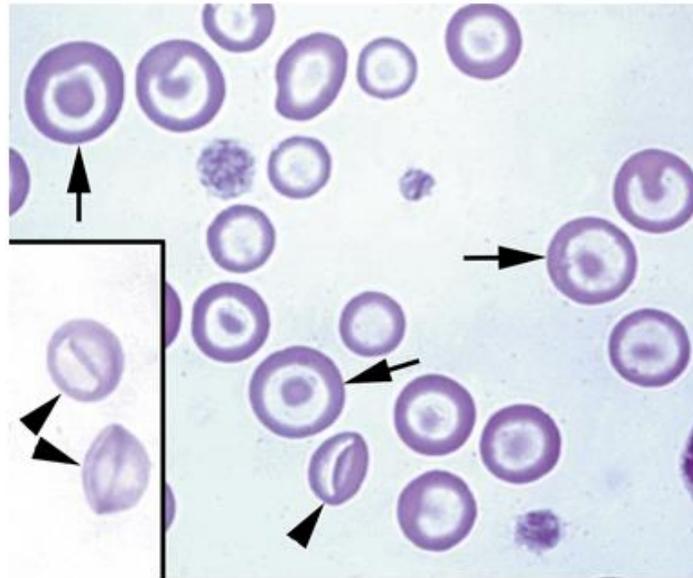
Fonte: Barger (2010, p. 147)

Legenda: Dacriócito é indicado com uma flecha.
Wright – coloração Giemsa

8.5.3 Leptócitos

Leptócitos são eritrócitos afinados e achatados com aumento no diâmetro e diminuição na espessura. Esses eritrócitos podem se dobrar (Figura 19) e assumir outras formas, como codócitos, estomatocitos (BARGER, 2010). Essas células sofreram alterações na relação superfície:volume e há um excesso de membrana em relação ao conteúdo interno formando dobras na membrana e células alvo. Esse tipo de alteração, possui pouca importância diagnóstica pois pode ocorrer *in vitro* se houver excesso de contato do eritrócito com o anticoagulante EDTA (THRALL *et al.*, 2015). Os leptócitos são geralmente hipocrômicos e podem aparecer na anemia por deficiência de Fe e raramente na insuficiência hepática, resultando em acúmulo de colesterol e fosfolipídios de membrana (HARVEY, 2012).

Figura 19 - Esfregaço sanguíneo de cão com numerosos leptócitos



Fonte: Thrall *et al.* (2015, p. 57)

Legenda: Diversas células-alvo (setas) e células dobradas (ponta de seta).
(Coloração de Wright.)

8.5.4 Excentrócitos

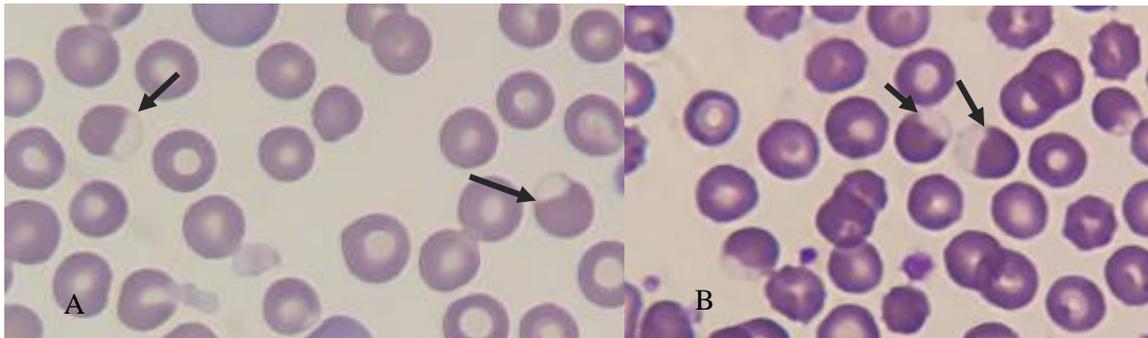
Os excentrócitos são eritrócitos que apresentam a Hb deslocada excentricamente dentro da célula e outra área pálida (Figura 20) (CALDIN *et al.*, 2005). Essa anormalidade ocorre devido a danos oxidativos à membrana eritrocitária que causam adesão de áreas opostas da face citoplasmática da membrana. Acredita-se que se forma *in vivo* quando as membranas adesivas e danificadas são unidas por encolhimento osmótico no rim e/ou por compressão da microcirculação (HARVEY, 2012).

Segundo o estudo de Caldin *et al.* (2005), na população de cães com excentrócitos as causas foram associadas à anemia leve a moderada, administração de drogas, ingestão de cebola e alho, intoxicação por antagonista da vitamina K, linfoma de células T, infecções graves, diabetes *Mellitus* entre outras condições.

Em cavalos há relatos de excentrócitos devido à ingestão de folhas de bordo vermelho, deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase eritrocitária e deficiência de glutathione redutase secundária à deficiência de FAD eritrocitária. Estes distúrbios eritrocitários resultam na diminuição da capacidade do eritrócito se proteger contra danos oxidativos (HARVEY, 2012).

Também há formação de excentrócitos em gatos devido a danos oxidativos, como na administração de paracetamol (HARVEY, 2017). Os gatos são mais sensíveis que os cães aos danos oxidativos, contudo isso se manifesta mais pela presença de corpúsculos de Heinz do que pelos excentrócitos (DAY; KOHN, 2012).

Figura 20 - Esfregaço de sangue periférico com excentrócitos (setas) de um cão doméstico.



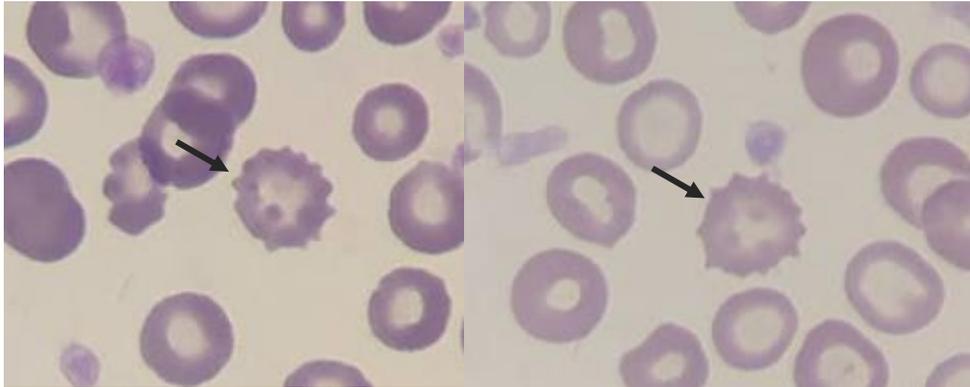
Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: Coloração Panótipo Rápido, aumento de 100x em imersão). A) cão com diabetes
B) cão com ureter ectópico

8.5.5 Equinócitos (eritrócitos crenados)

Os equinócitos são eritrócitos espiculados com projeções curtas e uniformemente dispersas (Figura 21). Essa alteração pode ser subclassificada em três tipos: tipo I que possuem bordas irregulares ou angulares e não possuem espículas distintas; tipo II que têm várias espículas rombas e os do tipo III que são ovóides ou esféricos com espículas regularmente espaçadas (BARGER, 2010). Equinócitos geralmente são artefatos resultantes da preparação inadequada do esfregaço, excesso de EDTA, armazenamento prolongado da amostra (HARVEY, 2012).

Figura 21 - Esfregaço de sangue periférico com equinócitos (setas) de um cão doméstico.



Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: (Coloração Panótipo Rápido, aumento de 100x em imersão)

Acredita-se que sua formação ocorre quando a área de superfície externa da bicamada lipídica aumenta em relação e camada interna devido à inserção de lipídios ou drogas anfipáticas (STOCKHAM; SCOTT, 2011; HARVEY, 2012) Além disso, sugere-se que a depleção de ATP, administração de drogas anfipáticas, carga de cálcio ou quando os eritrócitos estão desidratados são relacionados como causas da equinocitose (BARGER, 2010).

Essa alteração morfológica é comum em esfregaços normais de suínos. Em cães há relatos em casos de linfoma, glomerulonefrite, hemangiossarcoma, deficiência de piruvato quinase, anemia hemolítica imunomediada, envenenamento por cascavel, intoxicação por doxorrubicina, entre outros. Em gatos, foi associado à administração crônica de doxorrubicina. Em cavalos, equinócitos foram observados com doenças que causam hiponatremia e hipocloremia, como colite ou exercícios (BARGER, 2010).

Em cães o envenenamento por serpentes causa equinócitos presumivelmente secundário à ação de fosfolipases presentes no veneno (HARVEY, 2012). Nos casos de acidentes crotálicos os equinócitos são do tipo III e possuem várias espículas finas. Em alguns casos há a formação de esferoquinócitos os quais parecem ser esferócitos com finas espículas presentes no intervalo de 24 a 48 h após o acidente ofídico e são indicativos seguros do envenenamento (THRALL *et al.*, 2015).

Na rotina clínica, frequentemente o equinócito é considerado um eritrócito crenado. A crenação ocorre depois que o sangue é coletado e enquanto o esfregaço sanguíneo seca as alterações da membrana provavelmente se devem à alcalinidade do vidro e pode aumentar com o armazenamento (depleção de ATP nos eritrócitos ou aumento da formação de lisolecitina plasmática). Devido a isso, é difícil saber se o equinócio é patológico ou não. Sendo assim, é aconselhado fazer outro esfregaço, usar uma lâmina de plástico ou lamínulas, pois a crenação

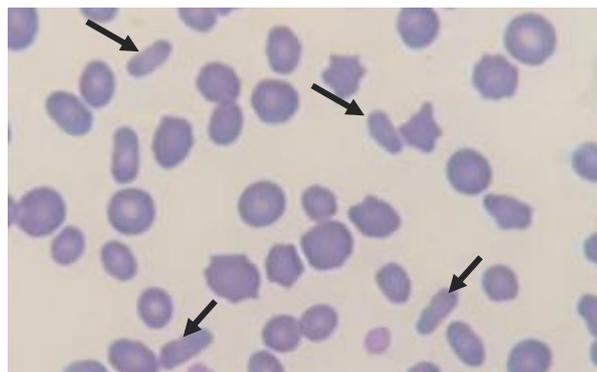
nesta lâmina é menos provável e secá-la rapidamente buscando fazer essa diferenciação. Por fim, também pode-se examinar uma porção úmida de sangue em uma lâmina e em caso de não encontrar equinócitos, os do esfregaço podem ser considerados artefatos (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

8.5.6 Eliptócitos (ovalócitos)

Os eliptócitos são eritrócitos de formato oval (Figura 22), não nucleados e que são normais em camelídeos (BARGER, 2010). Os termos eliptocitose e ovalocitose costumam ser sinônimos, sendo o primeiro usado para nomear células alongadas e elípticas e o segundo para células mais arredondadas, respectivamente (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Na veterinária, os ovalócitos são ocasionalmente descritos. Em cães há relatos de ovalocitose hereditária com deficiência de proteína da banda 4.1, mas também em cães com mielofibrose, glomerulonefrite e doença mielodisplásica (BARGER, 2010). Em gatos, foram relatados eliptócitos com anormalidades da medula óssea (neoplasias mieloides e leucemia linfoblástica aguda), toxicidade por doxorubicina, desvios portossistêmicos e lipidose hepática (HARVEY, 2012; 2017).

Figura 22 - Eliptócitos (setas) em esfregaço sanguíneo de um gato



Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: (coloração Panótico Rápido, aumento de 100x em imersão)

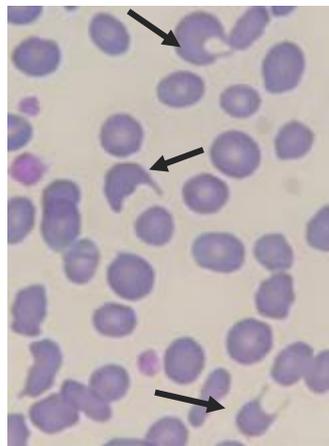
8.5.7 Ceratócitos

Ceratócitos ou Queratócitos são eritrócitos que possuem uma bolha ou vacúolo na sua periferia que ao se romper forma de uma a duas projeções (Figura 23) (WALTON, 2013). Essa

alteração morfológica é indicativa de fragmentação de eritrócitos e é resultado de trauma celular (JAVINSKY, 2011).

Na presença desta alteração, deve-se considerar a presença de um fluxo sanguíneo turbulento ou distúrbios microangiopáticos como coagulação intravascular disseminada e a ocorrência de hemangiossarcoma (JAVINSKY, 2011) Além disso, também foi relatado em anemia por deficiência de Fe, distúrbios hepáticos, toxicidade da doxorubicina em gatos e na síndrome mielodisplásica (HARVEY, 2012). E, em lesões microvasculares, principalmente com deposição de filamentos de fibrina (BARGER, 2010). Essa alteração é incomum em cavalos, mas há relatos em potros com deficiência de Fe (WALTON, 2010).

Figura 23 - Ceratócitos em esfregaço sanguíneo de um gato.



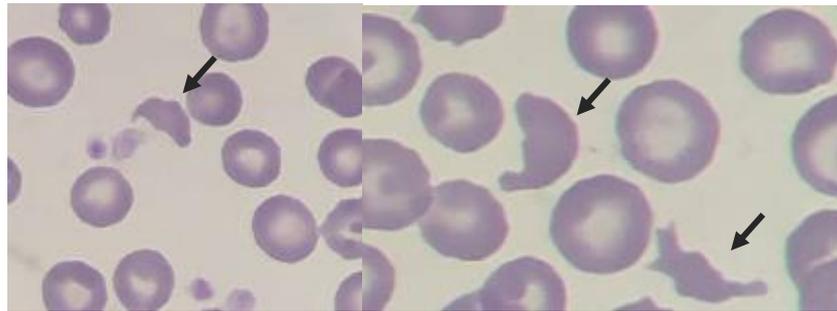
Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: Ceratócitos são indicados pelas setas.
(Coloração de Panótico Rápido, aumento de 100x em imersão)

8.5.8 Esquistócitos

Esquistócitos ou esquizócitos são fragmentos de eritrócitos com extremidades pontiagudas (HARVEY, 2012). O formato do fragmento varia podendo ser de triangular, espiculado a pontiagudo (Figura 24). Essa alteração morfológica em geral é resultante de danos físicos aos eritrócitos devido a um fluxo sanguíneo turbulento ou anormalidades vasculares (BARGER, 2010).

Figura 24 - Esfregaço de sangue periférico de um cão doméstico com presença de esquistócitos



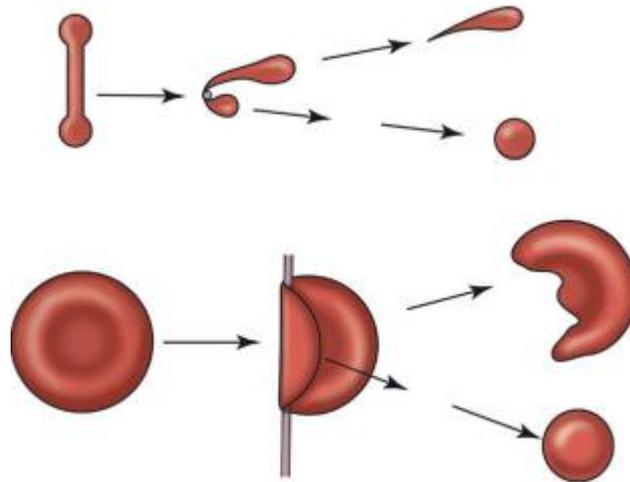
Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: Esquistócitos são indicados pelas setas.
(Coloração Panótipo Rápido, aumento de 100x em imersão)

Esquistócitos podem ocorrer em cães com anemia hemolítica microangiopática associada à coagulação intravascular disseminada (CID). Nesse caso, sua formação pode ocorrer pelo impacto do eritrócito com filamentos de fibrina no sangue (Figura 25). Em gatos, cavalos e bovinos são vistos com menos frequência, possivelmente por possuírem eritrócitos menores e menos propensos a serem divididos por filamentos de fibrina na circulação (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Outras doenças com presença de esquistócitos incluem: glomerulonefrite, vasculite, hemangiossarcoma, endocardite, insuficiência cardíaca, síndrome hemolítica urêmica, síndrome cava da dirofilariose, doença hepática, distúrbios histiocíticos hemofagocíticos, diseritropoiese adquirida e deficiência de Fe (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Figura 25 - Desenho da formação de esquistócitos e microesferócitos



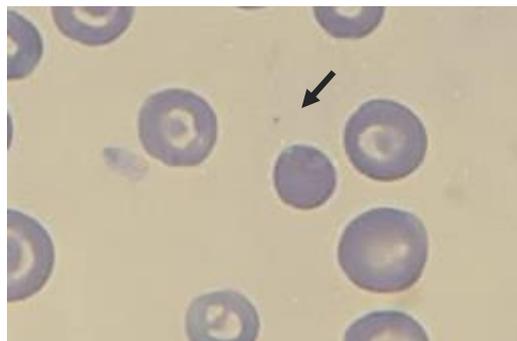
Legenda: formação de esquistócitos e microesferócitos quando um eritrócito impacta uma fita de fibrina sob condições de fluxo

Fonte: Harvey (2012, p. 70)

8.5.9 Esferócitos

O esferócito também é resultado de fragmentação eritrocitária. Nessa alteração o eritrócito perde sua biconcavidade e se torna redondo como uma esfera (Figura 26). Algumas características como perda da palidez central, diminuição no tamanho e coloração mais escura podem ser visualizadas nos esfregaços sanguíneos (BARGER, 2010).

Figura 26 - Esferócito em esfregaço de sangue periférico de um cão doméstico



Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: Presença de um é indicada pela seta.
(Coloração Panótipo rápido, 100x)

Nos animais domésticos, os esferócitos são mais reconhecidos em cães, pois seus eritrócitos são maiores e possuem maior palidez central, nas demais espécies, deve-se ter cautela para reconhecê-los. Esferocitose moderada a acentuada pode estar associada à anemia

hemolítica imunomediada e o formato do eritrócito resulta da perda da membrana (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Segundo Garden *et al.* (2019), a esferocitose deve ser avaliada na monocamada, pois artefatos semelhantes a esferócitos podem ser vistos tanto na borda da lâmina, como em áreas espessas. Além disso, para se fazer o diagnóstico de anemia hemolítica imune deve-se eliminar outras causas de esferócitos, incluindo, por exemplo, picnócitos, que são semelhantes; envenenamento, danos oxidativos (paracetamol, zinco), deficiência de piruvato quinase, hiperesplenismo, distúrbios que causam fragmentação eritrocitária (endocardites, hemangiossarcomas), diseritropoiese.

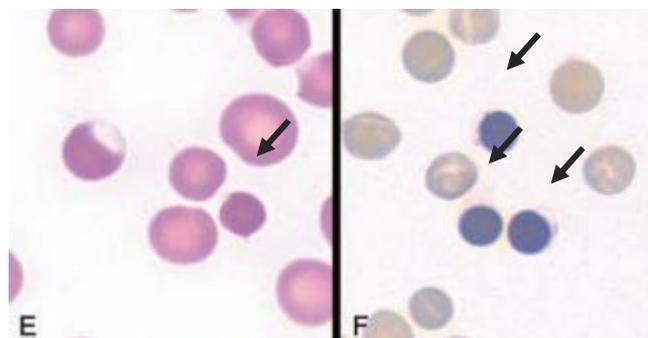
Ademais, outras causas de esferocitose incluem parasitas eritrocitários, transfusão de sangue armazenado. Os microesferócitos, podem ser resultado da fragmentação eritrocitária (Figura 25) (HARVEY, 2017).

Essas células também foram associadas à picada de abelha e anaplasmoses em bovinos (HARVEY, 2012).

8.5.10 Picnócito

Picnócitos são eritrócitos irregularmente esféricos com pequenas projeções citoplasmáticas, possuem menor diâmetro e coram mais densamente (Figura 27). Esses poiquilocitos contraídos têm concentrações de hemoglobina mais altas e, presumivelmente, representam eritrócitos em eritose. Sua formação, assim como os excentrócitos, parece ser devido à lesão por oxidantes (HARVEY, 2012). Podem se desenvolver, também, a partir dos excentrócitos depois da perda de parte da membrana fundida (WALTON, 2013).

Figura 27 - Picnócitos em esfregaço sanguíneo de um cavalo.

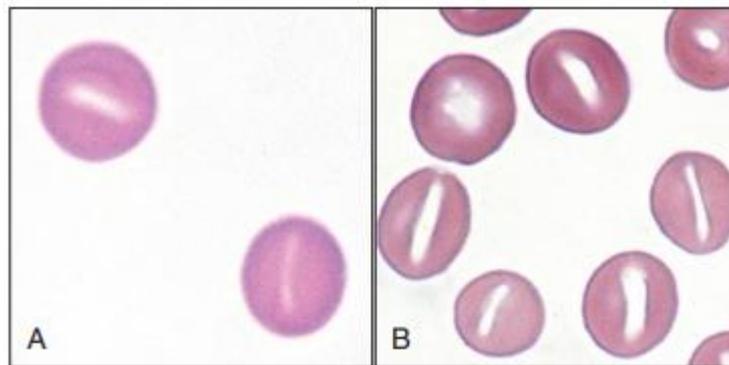


Fonte: Stockham; Scott (2011, p. 885)
 Legenda: Picnócitos são indicados pelas setas.
 Coloração com novo azul de metileno

8.5.11 Estomatócitos

Estomatócitos são resultantes do dobramento do excesso de membrana, o que forma uma área alongada (fenda ou estômato = boca) e pálida no centro da célula (Figura 28). Eritrócitos jovens, macrócitos jovens ou eritrócitos policromatofílicos, são estomatócitos frequentemente. No entanto, essa alteração não é comum (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Figura 28 - Estomatócitos com áreas alongadas de palidez central no sangue



Fonte: Harvey, 2012 p. 68

Legenda: (A) sangue de um gato com anemia hemolítica e devido a não uniformidade destes, foram considerados artefatos;
(B) estomatócitos no sangue de um cão assintomático.
(Coloração Panótipo rápido, 100x)

Os estomatócitos podem ocorrer de artefatos em esfregaço sanguíneo espesso e quando o conteúdo de água dos eritrócitos é aumentado. Além disso, se formam quando o pH está diminuído e na presença de drogas anfipáticas que se distribuem preferencialmente no folheto interno da bicamada lipídica (HARVEY, 2012).

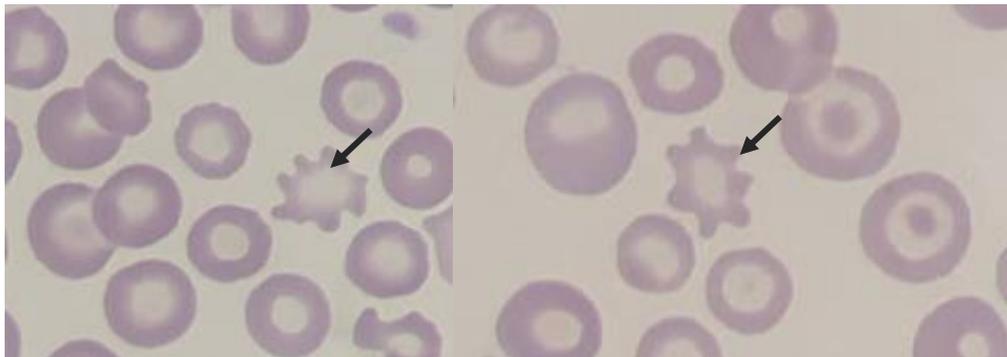
Há relatos de estomacitose hereditária em várias raças de cães como Schnauzers Miniatura, Malamutes do Alasca e Drentse Partrijshond. Sendo que a formação do estomatócito envolve a membrana celular e/ou o controle do volume celular. Nos cães da raça Drentse Partrijshond acredita-se que o defeito de eritrócitos ocorra devido à concentração anormal de fosfolipídios na membrana eritrocitária. Nos Malamutes do Alasca, por sua vez, acredita-se que a causa seja secundária a um defeito de membrana que admite conteúdos aumentados de sódio e água nos eritrócitos e nos Schnauzer miniatura a causa não foi descrita (THRALL *et al.*, 2015).

8.5.12 Acantócitos

Acantócitos são eritrócitos com projeções citoplasmáticas irregulares (Figura 29) (BOES; DURHAM, 2017). Sua formação está associada ao aumento de colesterol na membrana em comparação com fosfolipídios e acredita-se que isso causa expansão da camada externa da bicamada lipídica. Nos casos onde os fosfolipídios e o colesterol aumentam em um grau semelhante, a formação de codócitos é mais provável do que a de acantócitos (HARVEY, 2012). Contudo, outros estudos sugerem a formação de acantócitos devido à fragmentação eritrocitária (BARGER, 2010).

A etiopatogenia dos acantócitos é desconhecida nos animais domésticos, mas estão associados ao hemangiossarcoma nos cães e distúrbios hepáticos nos gatos. Em cavalos é raramente vista (WALTON, 2013). Acantocitose é relatada como ocorrendo em cabras jovens (HARVEY, 2012).

Figura 29 - Esfregaço de sangue periférico de um cão doméstico com presença de acantócitos (seta)



Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: (coloração Panótipo Rápido, 100x). Diagnostico provisório: Câncer vesical.

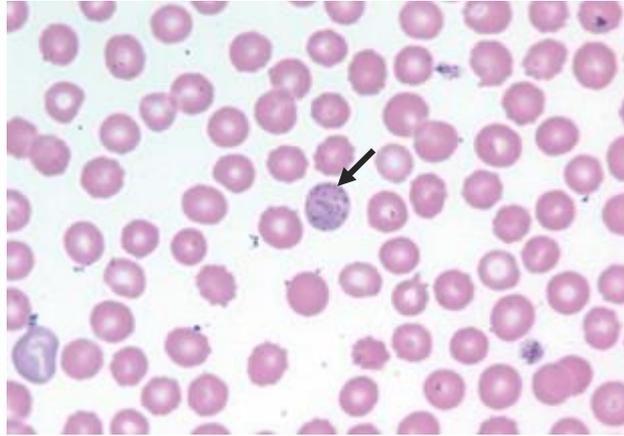
9 INCLUSÕES ERITROCITÁRIAS

9.1 Pontilhado basofílico

Trata-se da agregação de ribossomos e polirribossomos nos eritrócitos visualizadas como estruturas pontilhadas uniformes (Figura 30) quando corados com corantes de Romanowsky (BARGER, 2010). Em ruminantes, essa alteração está associada à presença de eritrócitos imaturos. Pela mesma razão, e em menor grau, pode ser visto também em cães e gatos com anemias altamente regenerativas. Quando não associado à presença de anemia grave,

o pontilhado basofílico é sugestivo de intoxicação por chumbo, contudo nem todos os animais intoxicados apresentam tal alteração (THRALL *et al.*, 2015).

Figura 30 - Esfregaço de sangue de um cão mostrando pontilhado basofílico (seta).

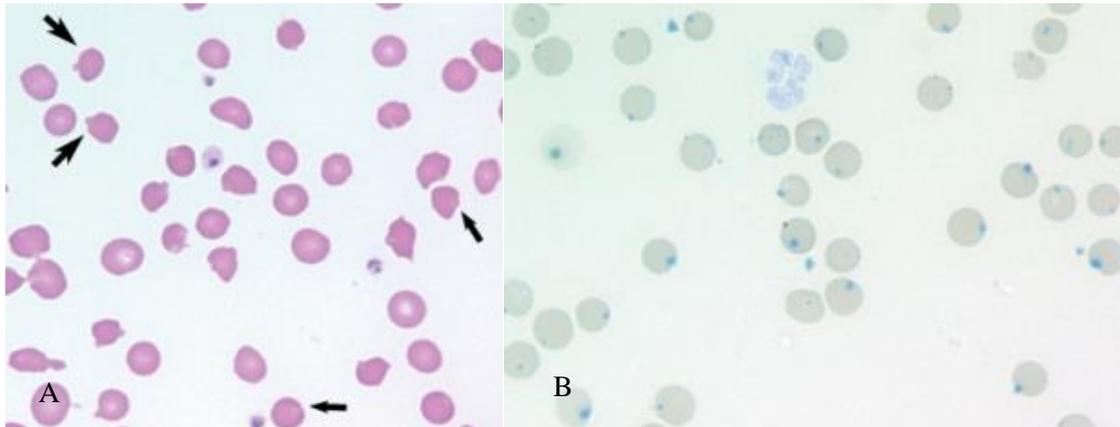


Fonte: Barger (2010, p. 149)
Legenda: Coloração Wright–Giemsa

9.2 Corpúsculo de Heinz

Os corpúsculos de Heinz são agregados de hemoglobina oxidada e precipitada fixados nas superfícies internas das membranas dos eritrócitos, (HARVEY, 2012) causados por lesão oxidativa (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Na coloração de Wright, são dotados das mesmas características de coloração da hemoglobina normal praticamente, contudo são vistos como estruturas discretamente pálidas que criam um defeito na membrana ou fazem uma protusão (Figura 31A). Quando corados com azul de metileno, são vistos como estruturas arredondadas azul pálidas (Figura 31B), formando pequenas projeções, associadas à membrana do eritrócito. Os corpúsculos de Heinz podem destacar-se do eritrócito e ocorrer como corpúsculo livre (STOCKHAM; SCOTT, 2011) ou, ainda podem ser vistos dentro de excentrócitos (HARVEY, 2012).

Figura 31 - Corpúsculos de Heinz em diferentes colorações de esfregaço sanguíneo



Fonte: Barger (2010, p. 150)

Legenda: (A) Coloração de Wright–Giemsa: corpúsculos de Heinz são observados e podem aparecer como projeções da membrana de do eritrócito (seta grande) ou como áreas pálidas perto da membrana (seta pequena); (B) Coloração com novo azul de metileno.

Dentre as espécies domésticas, eritrócitos de gatos saudáveis podem apresentar até 5% de corpúsculos de Heinz (HARVEY, 2017). Essa espécie, em particular, possui a hemoglobina mais susceptível à lesão oxidativa por possuir mais de oito grupos sulfidríla em comparação com dois na maioria das outras espécies. Alguns medicamentos associados à anemia por corpúsculo de Heinz em gatos incluem, por exemplo, azul de metileno, propofol, acetaminofeno, aspirina, fenazopiridina e metionina (CHRISTIAN, 2010). Além de possuírem a hemoglobina mais susceptível ao dano oxidativo, o baço dos gatos é menos eficiente na remoção dos corpúsculos de Heinz do sangue (HARVEY, 2017). Um aumento no número de Heinz pode ser observado em gatos com algumas doenças, como a diabetes *Mellitus*, tendo em vista que a glicose e acetona são moléculas reativas que induzem a formação de radicais livres, hipertireoidismo e linfoma (MACHADO *et al.*, 2009).

Muitos produtos químicos, plantas e fármacos são agentes oxidantes e causam anemia hemolítica. As anemias hemolíticas causadas por agentes oxidantes são resultantes da quebra do metabolismo antioxidativo do eritrócito (FIGHERA, 2007). A lesão oxidativa nos eritrócitos pode causar a formação de metahemoglobina, corpúsculos de Heinz, lesão da membrana eritrocitária, excentrócitos ou até mesmo a destruição da célula (MACHADO *et al.*, 2009). O consumo de cebola e alho, por exemplo, se encontra entre as causas de anemia hemolítica por corpúsculos de Heinz. Acredita-se que o sulfureto de n-propil, presente nesses alimentos, seja responsável por reduzir a atividade da glucose-6-fosfato desidrogenase, interferindo na síntese de glutathione e, portanto, da defesa contra danos oxidativos (GIANNICO *et al.*, 2014).

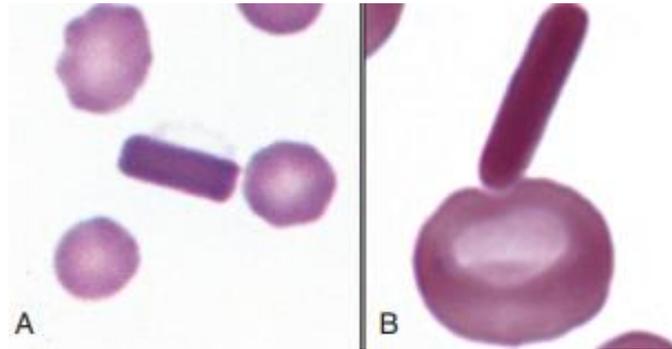
Além disso, por meios ainda desconhecidos, o princípio tóxico (n-propil dissulfito) presente na cebola, causa a transformação da hemoglobina em metemoglobina. Sendo assim, na intoxicação por cebola há uma condição aguda quando o animal consome grandes quantidades uma única vez caracterizada por metaglobinúria e uma condição crônica devido à ingestão em pequenas quantidades causando a anemia hemolítica com corpúsculos de Heinz (SILVA; PORTO; GERARDI, 2017b). A toxicidade do Cu resulta na formação de corpos de Heinz em ovelhas e cabras (HARVEY, 2012). Nesse caso a intoxicação ocorre quando há uma alta concentração de Cu no plasma excedendo o número de proteínas transportadoras. Quando em concentrações altas o Cu prejudica o metabolismo da glutathione inibindo enzimas na via de desvio da hexose monofosfato. Dessa forma, como a glutathione é importante como antioxidante, há formação de corpúsculos de Heinz (SILVA; PORTO; GERARDI, 2017).

Outras substâncias e medicamento oxidantes que induzem a formação de corpúsculos de Heinz incluem *Brassicas* spp., folhas murchas ou secas de bordo-vermelho (*Acer rubrum*), benzocaína, zinco, fenotiazina, fenilidrazina, naftaleno, vitamina K, propilenoglicol (THRALL *et al.*, 2015).

9.3 Cristais de hemoglobina

Cristais de hemoglobina são hemoglobinas instáveis que se precipitam nas hemácias (Figura 32) (BARGER, 2010). Intensamente corados adquirem diversos formatos como de lápis, paralelograma ou cubo dentro das hemácias (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Na veterinária são encontrados em cães e gatos, porém não se sabe o seu significado. Podem ser encontrados como artefatos devido à estocagem da amostra. Em humanos, podem ser encontrados devido às hemoglobinopatias (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Figura 32 - Cristais de hemoglobina em esfregaços de sangue.



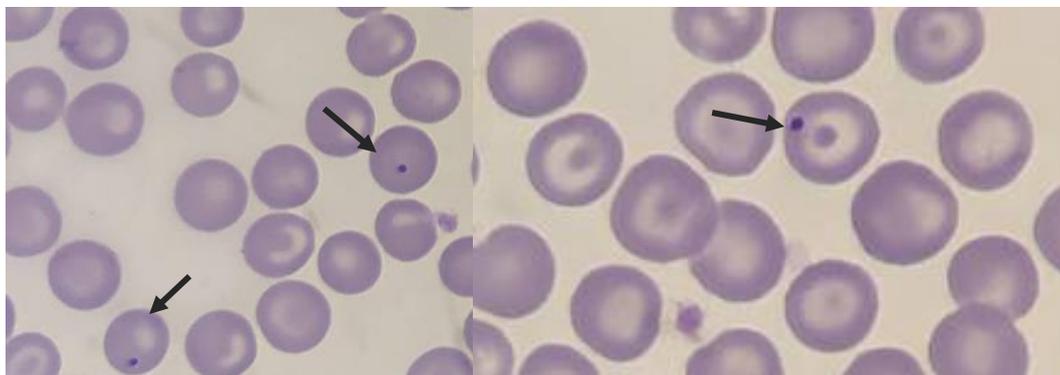
Fonte: Harvey (2012, p. 76)

Legenda: A) Hemoglobina cristalizada em um eritrócito de um gato.
B) hemoglobina cristalizada no sangue de um cão com anemia não regenerativa leve associada a um carcinoma hepatocelular.

9.4 Corpúsculos de Howell-Jolly

Corpúsculos de Howell-Jolly são remanescentes nucleares que permaneceram após o eritrócito deixar a medula óssea. Geralmente são estruturas arredondadas, de tamanho variado e altamente basofílicas (Figura 33). Normalmente são removidos pelo baço. Contudo, em cavalos e gatos, espécies com baço não sinusoidal, um baixo número pode ser encontrado (BARGER, 2010). O número de corpúsculos de Howell-Jolly aumenta na circulação em casos de anemia regenerativa e função esplênica diminuída, incluindo pacientes esplenectomizados (THRALL *et al.*, 2015; STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Figura 33 - Esfregaço de sangue periférico de um cão doméstico com corpúsculos de Howell-Jolly (seta)



Fonte: Arquivo pessoal

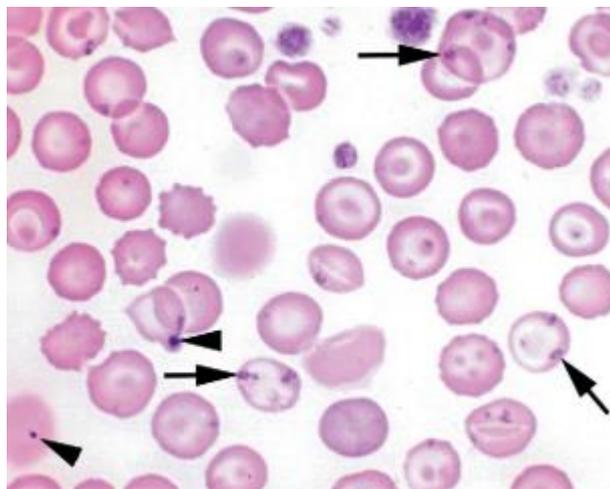
Legenda: (coloração panótipo rápido, 100x em imersão)

9.5 Grânulos sideróticos ou corpúsculos de Pappenheimer

Os grânulos sideróticos são agregados de acúmulo de Fe nos eritrócitos. Hemácias anucleadas (reticulócitos, eritrócito maduro) e hemácias nucleadas com Corpúsculos de Pappenheimer recebem o nome de sideróticos e sideroblastos respectivamente (REAGAN; ROVIRA; DE NICOLA, 2019). Nos sideroblastos, se os grânulos estiverem em torno do núcleo esta célula é chamada de sideroblasto anelado (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Nos eritrócitos corados por Wright, os grânulos sideróticos são estruturas basofílicas (Figura 34) e podem ser difíceis de distinguir de um pontilhado basofílico (agregados de RNA retidos). Os grânulos sideróticos costumam ocorrer de maneira agregada com uma coloração mais pálida enquanto o pontilhado basofílico tende a se distribuir pelo citoplasma e possui coloração mais proeminente. Para confirmar a presença de grânulos sideróticos é necessário empregar um corante especial, como o Azul de Prússia (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Os sideróticos são raros nos animais domésticos e sua ocorrência pode estar associada ao uso de cloranfenicol, mielodisplasia e eritropoese ineficaz de causa desconhecida (THRALL *et al.*, 2015).

Figura 34 - Esfregaço de sangue de um cão com grânulos sideróticos e corpúsculos de Howell-Jolly.



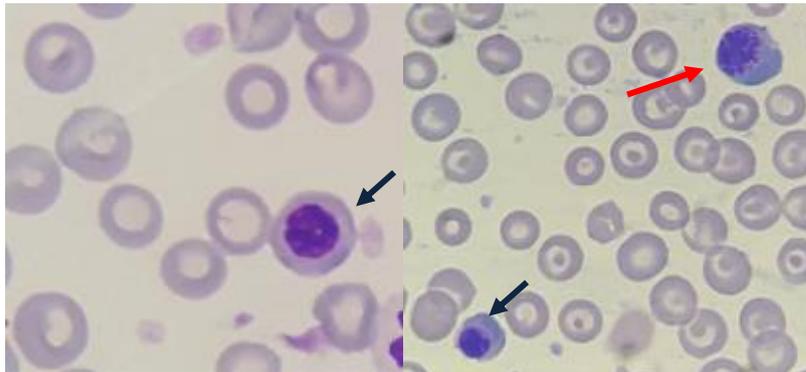
Fonte: Thrall *et al.* (2015, p. 68)

Legenda: Eritrócitos com grânulos sideróticos estão presentes (setas) e corpúsculos de Howell-Jolly (pontas de flechas). (Coloração de Wright).

10 ERITRÓCITOS NUCLEADOS

O aumento de eritrócitos nucleados (Figura 35) na circulação está associado à anemia regenerativa ou sua liberação precoce devido à hipóxia geralmente. Dependendo do seu nível de maturidade, essas células apresentam núcleo arredondado e citoplasma policromatofílico ou hemoglobinizado (BARGER, 2010).

Figura 35 - Esfregaço de sangue periférico de um cão doméstico com eritrócitos nucleados.



Fonte: Arquivo pessoal

Legenda: Metarrubricitos (seta) e prorrubricito (seta em vermelho)
(Coloração Panotipo Rápido, 100x)

A presença de eritrócitos nucleados pode também ocorrer na ausência de anemia em doenças que afetam o baço e a medula óssea. Podendo ser vista em intoxicações por chumbo, onde geralmente a anemia é mínima ou inexistente, e em casos de septicemia, choque endotóxico e administração de drogas onde a medula óssea está danificada. Além disso, na presença de precursores eritrocitários nucleados em animal com anemia não regenerativa, condições como neoplasia hematopoiética, mielodisplasia, função esplênica prejudicada e distúrbios diseritropoiéticos hereditários devem ser considerados. A presença de rubriblastos em anemia não regenerativa é sugestiva de neoplasia mieloide (HARVEY, 2012).

11 ORGANISMOS ERITROCITÁRIOS

Vários agentes infecciosos são reconhecidos como ocorrendo dentro ou sobre as hemácias. Entre estes temos os organismos rickettsiais intracelulares (espécies de *Anaplasma*), parasitas protozoários intracelulares (espécies de *Babesia*, espécies de *Theileria* e *Cytauxzoon felis*) e espécies de micoplasmas hemotrópicos. Inclusões do vírus da cinomose em cães também podem ser observadas em eritrócitos. Geralmente causam anemia hemolítica de leve a grave, o dano aos eritrócitos pode ser causado diretamente pelo parasito, mas a lesão imunomediada secundária pode ser mais importante em alguns casos (HARVEY, 2012).

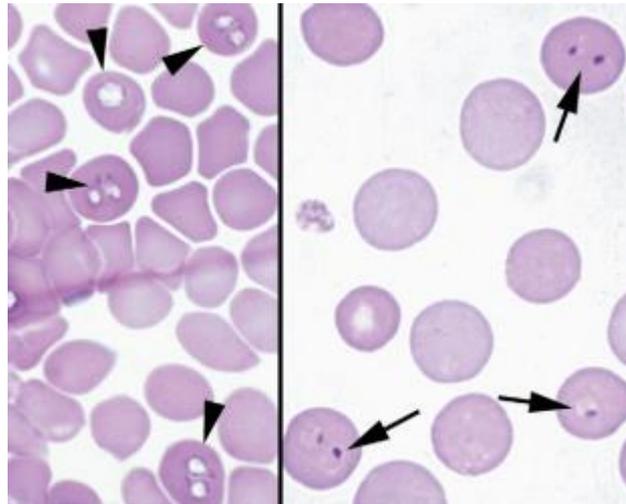
11.1 Piroplasmas

11.2 Espécies do gênero *Babesia* e *Theileria*

Babesia spp. e *Theileria* spp., são da ordem Piroplasmida, geralmente chamados de piroplasmas. Morfologicamente são parecidos, mas possuem ciclos de vida distintos. As espécies do gênero *Babesia* são parasitos exclusivos de eritrócitos, enquanto espécies de *Theileria* parasitam leucócitos antes dos eritrócitos. Ambos são transmitidos por carrapatos (hospedeiro definitivos) principalmente (BOES; DURHAM, 2017).

Na coloração do tipo Romanowsky, um organismo babesial geralmente possui citoplasma que varia de incolor a azul claro e um núcleo de vermelho a roxo (HARVEY, 2012). A forma varia conforme a espécie, podendo ser oval até formato de pera, lágrima e comumente ocorrem aos pares (STOCKHAM; SCOTT, 2011; HARVEY, 2012). O tamanho também é variável, desde grandes (2,5-5,0 μm), facilmente visualizáveis, a pequenos (1,0-2,5 μm de diâmetro) (HARVEY, 2012). As principais espécies de babesias nos animais domésticos incluem em cavalos (*Babesia caballi*); bovinos (*Babesia bigemina*, *Babesia bovis*); ovinos e caprinos (*Babesia ovis*); cães (*Babesia canis*, *B. gibsoni*) (Figura 36) e gatos (*Babesia felis*). A babesiose pode causar anemia hemolítica intravascular e extravascular por lesão direta de glóbulos vermelhos, o efeito inocente do espectro e anemia hemolítica mediada por imunidade secundária (BOES; DURHAM, 2017).

Figura 36 - Esfregaço de sangue de cães com babesiose.



Fonte: Thrall (2015, p. 70)

Legenda: Os organismos de *Babesia canis* aparecem como estruturas em forma de gota de pouca coloração (pontas de seta). A direita *Babesia gibsoni* (setas). (Coloração de Wright)

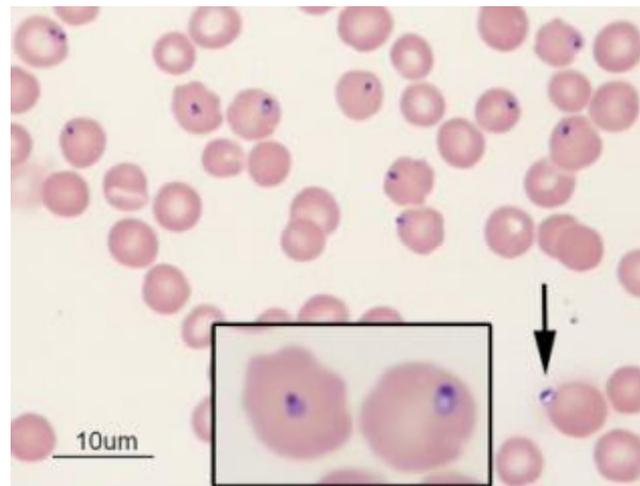
O gênero *Theileria* inclui a espécie *Theileria equi* em equinos que quando infectados podem apresentar doença subclínica ou ter estágios patológicos, incluindo anemia hemolítica (HARVEY, 2012). Em bovinos há relatos de *Theileria parva*, *Theileria annulata* e *Theileria lestoquardi* em ovinos e caprinos (THRALL *et al.*, 2015). Esses piroplasmas são altamente pleomórficos, seus formatos incluem anéis, cocos, bastonetes, peras e cruces de malta (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

11.3 *Cytauxzoon* spp.

Cytauxzoon felis (Figura 37) infecta eritrócitos de felinos e assim como a *Theileria* spp., o gênero *Cytauxzoon* não infecta somente os eritrócitos, possuindo uma fase de tecido. Contudo, seus esquizontes se desenvolvem em macrófagos, e não em linfócitos (HARVEY, 2012). Sua transmissão se dá através da picada do carrapato infectado, sendo as espécies *Dermacentor variabilis* e *Amblyomma americanum*, até o momento, os únicos vetores confirmados de *C. felis* (COHN; BIRKENHEUER, 2015).

Esses piroplasmas possuem a forma de anel de sinete, ocasionalmente pode apresentar o formato de pino de segurança, palito de fósforo e cruz de malta. Normalmente, a menos que o gato esteja em estágio terminal de infecção, 1% das hemácias aparecem infectadas. As formas de esquizogonia nos macrófagos são detectáveis em aspirados de linfonodos, fígado, baço, medula óssea e pulmões de gatos clinicamente infectados (VALENCIANO; COWELL, 2020).

Figura 37 - Esfregaço sanguíneo de um gato com citauxzoonose terminal.



Fonte: Allison; Meinkoth (2010, p. 207)

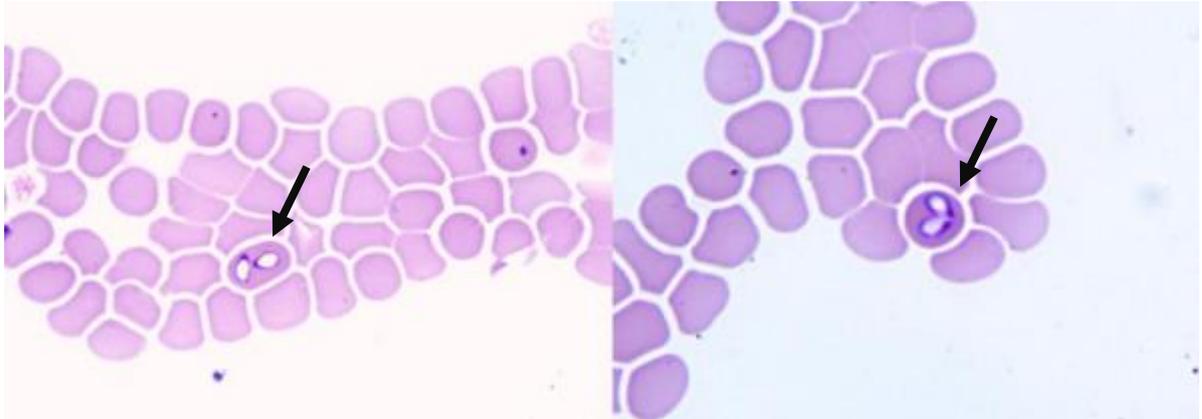
Legenda: Um piroplasma extracelular está presente (seta).

Detalhe: Maior ampliação de dois piroplasmas.
(Coloração de Romanowsky)

11.4 Rangeliose

Rangelia vitalii é um hemoprotozoário que infecta hemácias (figura 38), leucócitos e células do endotélio vascular. Acredita-se que os principais vetores transmissores da rangeliose sejam os carrapatos das espécies *Amblyomma aureolatum* e *Rhipicephalus sanguineus*. A enfermidade também conhecida como Nambyuvi que significa “orelha que sangra”, sendo este um sinal clínico não patognomônico da infecção é vista no Brasil principalmente nos estados do Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, São Paulo, Paraná. As formas do protozoário da circulação variam de arredondada, ovais e piriformes e as inclusões nos eritrócitos medem de 2,0 a 3,5 um de comprimento por 1,5 a 2,3 de largura. A enfermidade pode se manifestar de quadros agudos até crônicos, sendo este último leve. As alterações hematológicas incluem, redução do hematócrito, hemoglobina, plaquetas e contagem de eritrócitos. (SOARES, 2014) A rangeliose afeta canídeos e os sinais clínicos incluem, anorexia, desidratação, apatia, hiporexia, epistaxe, petéquias na pele e sangramento abundante nas orelhas (FREDO, 2017).

Figura 38 - Eritrócitos parasitados por *Rangelia vitalii* (Setas).

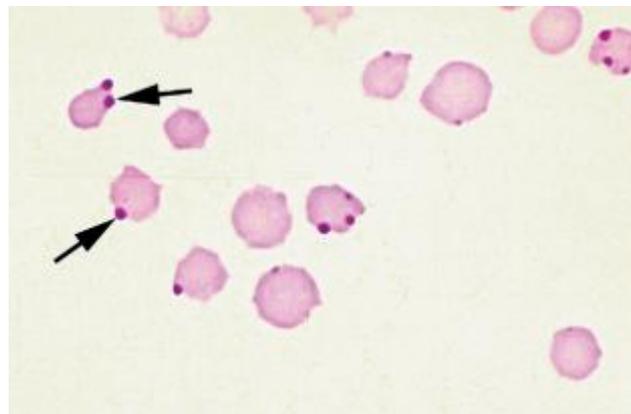


Fonte: Soares, 2014

12. *Anaplasma* spp.

Anaplasmosose é uma doença infecciosa, causada por bactérias, importante em bovinos. *Anaplasma marginale* (Figura 38) causa anemia hemolítica leve a acentuada em bovinos adultos, sendo que os bezerros são mais resistentes e geralmente não adoecem, mas se tornam portadores. *Anaplasma centrale* também infecta bovinos, contudo, é muito menos patogênica. *Anaplasma ovis*, por sua vez, é patogênica para cabras, ovelhas e alguns ruminantes selvagens (HARVEY, 2012). Diferentes espécies de carrapato servem como vetores, além de ocorrer por transmissão mecânica (ALLISON; MEINKOTH, 2010).

Figura 39 - Esfregaço de sangue de uma vaca anêmica com anaplasmosose.



Fonte: Thrall (2015, p. 70)

Legenda: Presença de *Anaplasma marginale* na periferia dos eritrócitos (setas).
(Coloração de Wright)

Nos eritrócitos, esses organismos aparecem basofílicos, arredondados, medindo de 0,5 a 1 µm e geralmente estão na periferia das hemácias, exceto *Anaplasma centrale* que frequentemente se encontra localizado mais centralmente nos eritrócitos (ALLISON; MEINKOTH, 2010). Geralmente há um organismo por célula, podendo haver múltiplos (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Devido a sua morfologia, esses organismos se assemelham aos corpúsculos de Howell-Jolly e devem ser diferenciados. Sendo assim, diferentemente desses corpúsculos, os organismos *Anaplasma* spp. normalmente não são esferas perfeitas e são menores (HARVEY, 2012).

Como citado anteriormente, essa infecção pode causar anemia hemolítica. A patogenia dessa anemia é predominantemente imunomediada e ocorre à medida que os anticorpos se ligam as hemácias lesadas, devido a infecção pelo *Anaplasma*, causando sua destruição através dos macrófagos. Além da anemia, esses animais podem apresentar reticulocitose, policromasia, ponteados basofílicos, hiperbilirrubinemia, bilirrubinúria e PCR positivo para *Anaplasma* spp (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

12.1 *Mycoplasma* spp

Micoplasmas hemotrópicos (hemoplasmas) são bactérias gram-negativas que se fixam na superfície externa dos eritrócitos, podendo causar anemia hemolítica imunomediada (HARVEY, 2012). As espécies que infectam os cães incluem, *Mycoplasma haemocanis* e ‘*Candidatus Mycoplasma haematoparvum*’. Já, em gatos, incluem, *Mycoplasma haemofelis*, ‘*Candidatus Mycoplasma haemominutum*’, ‘*Candidatus Mycoplasma turicensis*’, sendo que a hemoplasmose causada por *M. haemofelis* pode causar uma anemia hemolítica grave, enquanto as outras espécies de hemoplasmas em gatos não costumam causar sinais clínicos graves. Os cães, por sua vez, se imunocompetentes, geralmente não desenvolvem a sintomatologia da doença (OBARA *et al.*, 2011). Contudo, *M. haemocanis*, em cães esplenectomizados, pode causar anemia (WARDROP *et al.*, 2016). Outras espécies de micoplasmas hemotrópicos nos animais domésticos incluem *Mycoplasma wenyonii* em bovinos, *Mycoplasma haemosuis* e *M. parvum* em suínos (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Em cães, o vetor proposto para transmissão é o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* e em gatos a pulga *Ctenocephalides felis*, está implicada na transmissão, além de ser sugerida a transmissão vertical e por meio de brigas (DAY; KOHN, 2012). Além disso, a transmissão

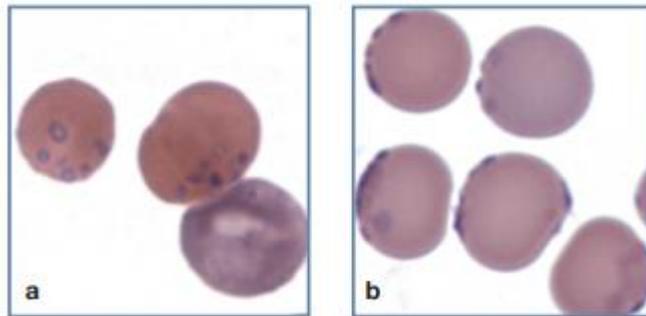
iatrogênica de *M. haemocanis* e *M. haemofelis* por transfusões sanguíneas também podem ocorrer (MESSICK; HARVEY, 2015).

O consenso do ACVIM determinou testes para cães doadores de sangue. Como não há muitos estudos com relação aos riscos da transfusão de sangue com teste positivo para ‘*Candidatus M. haemominutum*’ e ‘*Candidatus M. haematoparvum*’, além de poucos relatos de casos em geral, o teste para esses patógenos é opcional. Contudo, para *M. haemocanis* é recomendado o PCR negativo. O mesmo acontece para os gatos, nesse caso, o teste de PCR deve ser negativo para *M. haemofelis* e é opcional para os outros hemoplasmas nessa espécie (WARDROP *et al.*, 2016).

O diagnóstico dessa infecção pode ser feito através do exame microscópico de um esfregaço sanguíneo. Contudo, uma vez que esses organismos podem se assemelhar a corpúsculos de Howell-Jolly ou precipitados de coloração granular, além da dificuldade de se diferenciar as espécies, o diagnóstico através da reação em cadeia da polimerase (PCR) é mais amplamente utilizado (OBARA *et al.*, 2011).

Em esfregaços sanguíneos corados por Wright, *M. haemofelis* (Figura 39) aparecem na membrana da hemácia como cocos basofílicos, anéis ou bastonetes (que podem ser cocos em cadeia). ‘*Candidatus M. haemominutum*’ é semelhante, contudo, geralmente não vistos nos formatos de anéis ou em cadeias, além dos cocos possuírem metade do diâmetro. Nos cães, esses organismos aparecem como cocos basofílicos epieritrocitários, sendo o *M. haemocanis* maior que a outra variante (ZABOLOTZKY; WALKER, 2020). Esses organismos podem ser visualizados livres no plasma, à medida que se dissociam da membrana e morrem após um período de tempo nas amostras com EDTA. Em amostras envelhecidas, os microrganismos mortos são vistos como um material granulado rosa claro em esfregaços sanguíneos (ALLISON; MEINKOTH, 2010).

Figura 40 - Organismos *Mycoplasma haemofelis* com coloração azul/púrpura na superfície dos eritrócitos de dois gatos com infecção natural



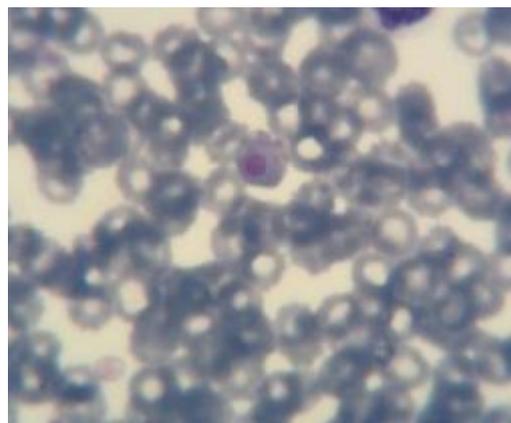
Fonte: Harvey (2017, p. 539)

Legenda: (a) as formas em anel do organismo na superfície do eritrócito.
(b) organismos na periferia dos eritrócitos.
(Coloração Wright-Giemsa)

11.5 Inclusão do Vírus da Cinomose

O vírus da cinomose é um membro do gênero *Morbillivirus*, da família Paramyxoviridae. As inclusões citoplasmáticas da cinomose podem ser observadas em esfregaços sanguíneos nos linfócitos e com menor frequência em neutrófilos, monócitos e eritrócitos (GREENE; VANDEVELDE, 2015). Os resquícios da replicação viral encontrados nas células recebem o nome de corpúsculos de inclusão de Lentz (Figura 40), que são excesso de proteína não utilizadas na replicação e que se depositam como inclusões.

Figura 41 - Corpúsculo de Lentz em hemácia



Fonte: Silva *et al.* (2017, p. 1025)

A presença desse corpúsculo intracitoplasmático serve como diagnóstico definitivo da doença, contudo, na sua ausência a doença não é descartada (SILVA, *et al.*, 2017a). Essas inclusões eritrocitárias pelo vírus da cinomose no cão são achados raros, podendo ser vistas no

estágio virêmico inicial e antes da doença clínica (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Quando visualizadas, aparecem de tamanhos variados, como inclusões arredondadas, ovais e azul-acinzentadas. Quando em coloração do tipo Wright ou Giemsa, são difíceis de se visualizar, ficando mais aparentes com a coloração de panótico rápido que é uma coloração Wright modificada (HARVEY, 2012).

12 CONCLUSÕES

Ao final deste trabalho, pode-se concluir que as alterações morfológicas dos eritrócitos possuem impacto na rotina clínica, auxiliando no diagnóstico. E, embora não sejam patognomônicas, tais alterações aqui catalogadas e descritas auxiliam na classificação das anemias, não só quanto à resposta da medula, mas também em relação às causas desta afecção. Além disso, observar alterações morfológicas em esfregaços sanguíneos também é importantes à medida que os índices eritrocitários podem ser errôneos e a presença de artefatos, que não possuem significado clínico, podem ser confundidos. Portanto, o não conhecimento das alterações e a dependência de contadores hematológicos automatizados podem levar a erros analíticos importantes.

Por fim, com relação às imagens, muitas alterações não puderam ser vistas na rotina laboratorial, talvez pela sua raridade. Além disso, a falta de diagnóstico provisório no laudo do hemograma, muitas vezes, não permitiu relacionar a alteração presente no animal com a respectiva patologia. Dessa forma, acredita-se que um estudo relacionando às doenças com as alterações mais vistas pode ser proveitoso.

REFERÊNCIAS

- ALLISON, R. W.; MEINKOTH, K. J. (Eds). Anemia caused by rickettsia, mycoplasma, and protozoa. *In*: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 199-210.
- AMSTUTZ, H. E. **Manual Merck de veterinária**. 10. ed. Cidade: Grupo GEN, 2014. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-412-0437-8/>. Acesso em: 02 nov. 2021.
- BALAN, M.; MCCULLOUGH, M.; O'BRIEN, P. J. Equine blood reticulocytes: reference intervals, physiological and pathological changes. **Comparative Clinical Pathology**, n. 28, p. 53-62, sep. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00580-018-2820-4>. Acesso em: 10 out. 2021.
- BARGER, A. N. Erythrocyte morphology. *In*: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 144-151.
- BARON, M. H.; ISERN, J.; FRASER, S. T. The embryonic origins of erythropoiesis in mammals. **Blood**, v. 119, n. 21, pp. 4828-4837. 2012.
- BOES, K. M.; DURHAM, A. C. Medula óssea, células sanguíneas, e o sistema linfóide/linfático. **Base Patológica da Doença Veterinária**, pp. 724-804.e2, feb. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7158316/>. Acesso em: 17 set. 2021.
- BRAZZEL, J. L. Morfologia das hemácias. *In*: VADEN, S. L.; KNOLL, J. S.; SMITH JR., F. W. K.; TILLEY, L. P. **Exames laboratoriais e procedimentos diagnósticos em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2013. pp. 713-720.
- CALDIN, M.; CARLI, E.; FURLANELLO, T.; SOLANO-GALLEGO, L.; TASCIA, S.; PATRON, C.; LUBAS, G. A retrospective study of 60 cases of eccentrocytosis in the dog. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 3, p. 224-231, sep. 2005. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1939165X.2005.tb00045.x?casa_token=2D-vaD2y4fEAAAAA%3AIfCTn84okUCx6w9MuDLaqQsVIhz7koubuOkn2J07fwemvs40fKZTG82_PcUYBy87V-1R3bTSVW7SIRM. Acesso em: 25 out. 2021.
- CHRISTIAN, J. A. Erythrokinetics and erythrocyte destruction. *In*: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 123-130.
- COHN, L. A.; BIRKENHEUER, A. J. cytauxzoonose. *In*: GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. pp. 799-805. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2725-9/>. Acesso em: 31 out. 2021.
- COWGILL, Elizabeth S.; NEEL, Jennifer A.; GRINDEM, Carol B. Clinical application of reticulocyte counts in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 6, p. 1223-1244, nov. 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561603000998>. Acesso em: 03 out. 2021.

- DAY, Michael J.; KOHN, Barbara (Eds). **BSAVA Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine**. 2. Ed. Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association, 2012.
- DIAZ GONZÁLEZ, Félix Hilario; SILVA, Sérgio Ceroni da. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 3. Ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2017. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/218155>. Acesso em: 17 set. 2021.
- FIGHERA, Rafael Almeida. Anemia hemolítica em cães e gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 2, p. s264-s266, 2007.
- FREDO, G., Leite-Filho, R. V., Pietzsch, C. D. Á., Andrade, C. P. D., Duda, N. C. B., Nascimento, L. C. D., & Sonne, L. (2017). Rangeliose: achados anatomopatológicos, hematológicos e detecção molecular de *Rangelia vitalii* em cães no Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, 47.
- GARDEN, O. A.; KIDD, L.; MEXAS, A. M.; CHANG, Y.-M.; JEFFERY, U.; BLOIS, S. L. *et al.* Declaração de consenso da ACVIM sobre o diagnóstico de anemia hemolítica imunomediada em cães e gatos. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 2, pp. 313-334, mar./abr. 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jvim.15441>. Acesso em: 28 out. 2021.
- GARLAND, M. Common morphological changes seen in canine and feline haematology – red blood cells. **Veterinary Nursing Journal**, v. 26, n. 3. 56-58, nov. 2011.
- GIANNICO, Amália Turner; PONCZEK, Clara Alita Corona; JESUS, Aline Spina de; MELCHERT, Alessandra; GUIMARÃES-OKAMOTO, Priscylla Tatiana Chaltun. Alimentos tóxicos para cães e gatos. **Colloquium Agrariae**, v. 10, n. 1, p. 69-86. 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/137699>. Acesso em: 28 out. 2021.
- GREENE, C. E.; VANDEVELDE, M. Cinomose. *In: _____*. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. pp. 26-43. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2725-9/>. Acesso em: 04 nov. 2021.
- GRONDIN, M. T.; DEWITT, S. F. Normal hematology of the horse and donkey. *In: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.)*. **Schalm's veterinary hematology**. 6. Ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. Pp. 821-828.
- GROTTO, H. Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30. n. 5, pp. 390-397, out. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/HLcTcgqkgV7VmpRWyWTTVXw/?lang=pt>. Acesso em: 03 set. 2021.
- HARVEY, J. W. The feline blood film: 1. Techniques and erythrocyte morphology. **Journal of feline Medicine and Surgery**, v. 19, n. 5, pp. 529-540, may. 2017.
- HARVEY, J. W. **Veterinary hematology**. A diagnostic guide and color atlas. St Louis: Elsevier, 2012.
- HODGES, Joanne; CHRISTOPHER, Mary M. Diagnostic accuracy of using erythrocyte 75ndices and polychromasia to identify regenerative anemia in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 238, n. 11, pp. 1452-1458, jun. 2011.

- JAVINSKY, E. Hematology and immune-related disorders. **The Cat**, p. 643-703, dec. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7271196/pdf/main.pdf>. Acesso em: 03 set. 2021.
- KANEKO, Jiro Jerry; HARVEY, John W.; BRUSS, Michael L. (Eds.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. London: Academic Press, 2008.
- KNOLL, S. J. Exame microscópico de esfregaço sanguíneo. *In*: VADEN, S. L.; KNOLL, J. S.; SMITH JR., F. W. K.; TILLEY, L. P. **Exames laboratoriais e procedimentos diagnósticos em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2013. pp. 483-487.
- KUHN, V.; DIEDERICH, L.; KELLER, T. C. S.; KRAMER, C. M.; LÜCKSTÄDT, W.; PANKNIN, C. *et al.* Red blood cell function and dysfunction: redox regulation, nitric oxide metabolism, anemia. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 26, n. 13, pp. 718-742, may. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5421513/>. Acesso em: 13 out. 2021.
- KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. **Robbins patologia básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.
- MACHADO, L. P., Kohayagawa, A., Saito, M. E., da Silveira, V. F., & Yonezawa, L. A. (2009). Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse na Medicina Veterinária. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 8(1), 84-94
- MARTINEZ, Carlos; Mooney CT, Shiel RE, Tang PK, Mooney L, O'Neill. Evaluation of red blood cell distribution width in dogs with various illnesses. *Can Vet J. O jornal veterinário canadense = La revue veterinaire canadienne*, v. 60, n. 9, pp. 964-971, sep. 2019.
- MESSICK, J. B.; HARVEY, J. W. Micoplasmose hemotrópica (hemobatonelose). *In*: GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. pp. 325-335. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2725-9/>. Acesso em: 31 out. 2021.
- MURADOR, Priscila; DEFFUNE, Elenice. Aspectos estruturais da membrana eritrocitária. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia [online]**, v. 29, n. 2, pp. 168-178, jun. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842007000200016>. Acesso em 6 set. 2021.
- NAIGAMWALLA, D. Z.; WEBB, J. A.; GIGER, U. Iron deficiency anemia. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 53, n. 3, pp. 250-256, mar. 2012.
- OBARA, H.; FUJIHARA, M.; WATANABE, Y.; ONO, H. K.; HARASAWA, R. A feline hemoplasma, 'candidatus mycoplasma haemominutum', detected in dog in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 73, n. 6, pp. 841-843, jan. 2011.
- OLVER, C. S. Erythropoiesis. *In*: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 36-42.
- OLVER, C. S.; ANDREWS, G. A.; SMITH, J. E.; KANEKO, J. J. Erythrocyte structure and function. *In*: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 123-130.
- REAGAN, W. J.; ROVIRA, A. R. I.; DE NICOLA, D. B. **Veterinary hematology: atlas of common domestic and non-domestic species**. Chichester: John Wiley & Sons, 2019.

REBAR, A. H. **Hemogram interpretation for dogs and cats**. Saint Louis: Ralston Purina Company, 2000.

REECE, William O.; ROWE, Eric W. Anatomia funcional e fisiologia dos animais domésticos. [S.l.]: Grupo GEN, 2020. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527736886/>. Acesso em: 08 out. 2021.

RIZZI T. E; MEINKOTH, J. H; CLINKENBEAR, K. D. Normal Hematology of the Dog. In: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 799-810

SHARKEY, L. C.; HILL, S. A. Structure of boné marrow. In: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 8-13.

SILVA, Gardenia Alves da; ARAÚJO, Estéfane Kelly Dias; LEITE, Ana Gabriela Pereira Moura; ALENCAR, Dalvan Fortaleza; PRADO, Alan Costa do; OLIVEIRA, Wellson Andrade de; CARDOSO, Janaína de Fátima Saraiva. Parâmetros hematológicos de cães apresentando corpúsculos de Lentz em esfregaço sanguíneo. **Pubvet**, v. 1, n. 10, pp. 1022-1027 out. 2017a.

SILVA, T. J.; PORTO, B. S. C.; GERARDI, B. Principais causas de anemia hemolítica nos animais domésticos. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 1, n. 28, pp.1-11, jan. 2017b.

SINK, C. A.; FELDMAN, B. F. **Urinálise e hematologia laboratorial para o clínico de pequenos animais**. São Paulo: Rocca, 2006. p. 77-96.

SMITH, J. E. Erythrocyte membrane: structure, function, and pathophysiology. **Veterinary Pathology**, v. 24, n. 6, pp. 471-476, nov. 1987. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/030098588702400601>. Acesso em: 31 ago. 2021.

SMITH, L. P. T. S. L. V. J. S. **KFW exames laboratoriais e procedimentos diagnósticos em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2013.

SOARES, João Fabio. História natural da rangeliose. 2014. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014. doi:10.11606/T.10.2014.tde-19092014-092438. Acesso em: 2021-11-27.

SOUMA, T.; SUZUKI, N.; YAMAMOTO, M. Renal erythropoietin-producing cells in health and disease. **Frontiers in Physiology**, v. 3, n. 6, p. 167, jun. 2015.

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

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica: clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2015.

TVEDTEN, H. Laboratory and Clinical Diagnosis of Anemia. In: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 152-161.

TVEDTEN, H.; MORITZ, A. Reticulocyte and heinz body staining and enumeration. *In*: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 1067-1073.

VALENCIANO, Amy C.; COWELL, Rick L. **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat**. E-book. [s.l.]: Elsevier, 2020.

VOIGT, Gregg L.; SWIST, Shannon L. **Hematology techniques and concepts for veterinary technicians**. 2. ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd 2011.

WALTON, Raquel M. (Ed.). **Patologia clínica equina**. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781118718704.ch2>. Acesso em: 14 out. 2021.

WARDROP, K. J.; BIRKENHEUER, A.; BLAIS, M. C, CALLAN MB, KOHN B, LAPPIN MR, SYKES J. Update on canine and feline blood donor screening for blood-borne pathogens. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 1, pp. 15-35, Jan-Feb. 2016.

WEISS, D. J. Iron and copper deficiencies and disorders of iron metabolism. *In*: _____; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 167-171.

WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010.

WILKERSON, M. J.; MASTRORILLI, C. Cluster of differentiation (CD) antigens. *In*: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 20-26.

ZABOLOTZKY, Shanon M.; WALKER, Dana B. Peripheral blood smears. *In*: VALENCIANO, Amy C.; COWELL, Rick L. **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat**. E-book. [s.l.]: Elsevier, 2020. pp. 438-467.

ZABOLOTZKY, Shanon M.; WALKER, Dana B.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. São Paulo: Grupo GEN, 2018. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595150621/>. Acesso em: 2021 ago. 30.

ZACHARY, James F.; MCGAVIN, D. Medula óssea, células sanguíneas e o sistema linfóide/linfático. *In*: BOES, K. M.; DURHAM, A. C. **Bases da patologia em veterinária**. 6. ed. São Paulo: Grupo GEN, 2018. p. 723-803. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595150621/>. Acesso em: 03 nov. 2021.

THOR, C. E. Hematology of the Pig. *In*: WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Eds.). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2010. pp. 842-851.