

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA – CIÊNCIAS**  
**CLÍNICAS**

**DISSERTAÇÃO**

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE**  
**ARARA CANINDÉ (*Ara ararauna*), NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

**CARLA RODRIGUES BAHIENSE**

**2010**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA –  
CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E  
BIOQUÍMICOS DE ARARA CANINDÉ (*Ara ararauna*), NO ESTADO DO  
RIO DE JANEIRO**

**CARLA RODRIGUES BAHIENSE**

*Sob a Orientação do Professor Doutor*  
**Gilberto Garcia Botelho**

Dissertação submetida como  
requisito parcial para obtenção  
do grau de **Mestre**  
em Medicina Veterinária, no  
Curso de Pós-Graduação em  
Medicina Veterinária, Área de  
Concentração-Ciências Clínicas

Seropédica, RJ  
Julho de 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA – CIÊNCIAS CLÍNICAS

CARLA RODRIGUES BAHIENSE

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae em Medicina Veterinária** no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM ...../...../.....

---

Gilberto Garcia Botelho, PhD.- UFRRJ

---

Carlos Henrique Machado, DSc – UFRRJ

---

Nádia Regina Pereira Almosny, PhD - UFF

---

José Machado Neves Júnior, PhD

## RESUMO

BAHIENSE, Carla Rodrigues. **Determinação de parâmetros hematológicos e bioquímicos de arara Canindé (*Ara ararauna*), no Estado do Rio de Janeiro**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

Pertencente à Ordem Psittaciforme e Família Psittacidae, a *Ara ararauna*, assim como os demais psitacídeos, é uma ave brasileira muito explorada no mercado pet, o que a torna um freqüente paciente veterinário. Apesar da extrema relevância clínica dos exames laboratoriais, dados acerca da hematologia e bioquímica sérica dessa espécie ainda são escassos. Importante é considerar também que diversos fatores não patológicos podem interferir em resultados dos exames hematológicos e bioquímicos das aves, como a idade, sexo, período reprodutivo, entre outros. O estudo teve como finalidade reconhecer e determinar padrões hematológicos e bioquímico-séricos para a espécie em questão, elucidando possíveis variações relacionadas a sexo, manejo e método de contenção. No experimento foram utilizados 68 exemplares, sendo 33 provenientes de um criatório comercial e 35 oriundos do acervo vivo da Fundação RIOZOO. As amostras sanguíneas foram obtidas na veia jugular, transferidas, para tubos contendo EDTA e para outros sem anticoagulante. Somente as aves do RIOZOO foram também submetidas a uma nova coleta, que ocorreu 10 minutos após anestesia com isoflurano, formando assim um grupo de 33 animais anestesiados e 35 não anestesiados. De cada animal foram aferidos trombocitometria, eritrocitometria, leucometrias global e específica, determinação de proteínas plasmáticas totais, uréia, creatinina, fosfatase alcalina, ácido úrico, colesterol, triglicerídeos, aspartato-aminotransferase, amilase, lipase, creatina-kinase, proteínas totais séricas, albumina e globulinas. Os resultados foram analisados pelo teste ANOVA e teste t pareado. As fêmeas apresentaram maior valor de trombocitometria. Os animais não anestesiados demonstraram um maior valor de leucometria global. Não houve nenhuma diferença significativa entre machos e fêmeas anestesiados. As aves oriundas do RIOZOO tiveram maior VG, hematimetria, VGM, contagem de eosinófilos e basófilos, uréia, AST e CK, porém, menores concentrações de albumina e creatinina. O estudo revelou discrepâncias a nível significativo entre os diferentes grupos estudados, permitindo um padrão hematológico mais adequado com as características individuais de cada paciente.

**Palavras-Chave:** Hematologia, Bioquímica, *Ara ararauna*

## ABSTRACT

BAHIENSE, Carla Rodrigues. **Determination of hematological and biochemical parameters of Canindé macaw (*Ara ararauna*) in State of Rio de Janeiro, Brazil.** Dissertation (Master of Veterinary Medicine, Clinical Sciences). Veterinary Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

Belonging to the Order Psittaciformes, Family Psittacidae, the *Ara ararauna*, like other parrots, is a Brazilian bird much exploited in the pet market, which makes it a frequent veterinary patient. Despite of the extreme clinical relevance of laboratory examinations, data on hematology and serum biochemistry of this species are scarce. Several factors can interfere with the birds results of hematological and biochemical values, such as age, sex, reproductive period, among others. The study aimed to recognize patterns and to determine haematological and serum biochemical parameters for the species in question, explaining possible variations related to sex, management and method of restraint. In the experiment was used 68 specimens, 33 from a commercial breeding facility and 35 from the live collection of the RIOZOO Foundation. The blood samples were collected by jugular vein, transferred into tubes containing EDTA and other with no anticoagulant. Only the birds of RIOZOO were subjected to a new collection, which occurred 10 minutes after of anesthesia with isoflurane, thus forming a group of 33 animals anesthetized and another 35 unanesthetized. Of each animal were determined trombocyte counts, erythrocyte counts, total and specific leucocyte counts, concentrations of total plasmatic protein, urea, creatinine, uric acid, cholesterol, tryglicerídes, total serum protein, albumin and globulin, and activities of alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, amylase, lipase, and creatine-kinase enzymes. The results were analyzed by ANOVA and paired T tests. Females had higher trombocitometria. Non-anesthetized animals had a greater total WBC count. Weren't significant differences between anesthetized males and females. The birds originated from RIOZOO had higher values of PCV, red blood cell count, MCV, eosinophils, basophils, urea, AST and CK, however, lower values of albumin and creatinine. The study revealed that was a significant level of discrepancies between the different groups, allowing the creation of a standard more specific hematologic, according to the individual characteristics of each patient.

**Key words:** hematology; biochemical; *Ara ararauna*

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1- Valores hematológicos e bioquímico-séricos de <i>Ara ararauna</i>	13
QUADRO 2 - Níveis mínimos, máximos e médios de eritrometria e proteína plasmática total (PPT) de araras-canindé ( <i>Ara ararauna</i> ) mantidas em cativeiro no município de Araçatuba – São Paulo	14
QUADRO 3 – Parâmetros eritrocitários e leucocitários para aves pertencentes ao grupo de Araras	14
QUADRO 4 - Valores de Ácido úrico (AU), Albumina (ALB), Aspartato- aminotransferase (AST), Cálcio (Ca), colesterol (COL), Creatina kinase (CK), Fosfatase alcalina (FA), Fosfato inorgânico (Pi) , Frutosamina (FRUT), Gama –glutamiltransferase (GGT) , Proteína plasmática total (PPT) e Uréia (UR) de araras-canindé ( <i>Ara ararauna</i> ) fêmeas e machos adultos mantidos em cativeiro comercial.	15
QUADRO 5 – Valores de AU, Albumina, AST, Cálcio, Colesterol, CK, FA, Fósforo, Frutosamina, GGT, PPT e Uréia bioquímica sanguínea de Arara Canindé ( <i>Ara ararauna</i> ) adultos e filhotes de ambos os sexos mantidos em cativeiro comercial	16
QUADRO 6 – Níveis de Uréia, Creatinina, AU, Sódio, Potássio, cálcio, Glicose, AST, ALT, GGT, LDH, CK, PPT, Albumina e Globulina de <i>Ara sp.</i>	16

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número de animais utilizados para cada parâmetro bioquímico	20
Tabela 2 – Valores mínimos, máximos, médios e desvio padrão de volume globular (VG), Hemoglobina (Hb), Hematimetria (Hem), Volume globular médio (VGM), concentração de hemoglobina globular média (CHGM) e trombocitometria (T) de <i>Ara arauana</i> , levando em considerando os diferentes grupos de acordo com sexo, manejo e contenção e contendo valores do grupo como um todo, representado como totais	21
Tabela 3 – Valores de Leucometrias global e específica absoluta de <i>Ara arauana</i> , levando em considerando os diferentes grupos de acordo com sexo, manejo e contenção e contendo valores do grupo como um todo, representado como totais	22
Tabela 4– Valores mínimos, máximos, médios e desvio padrão de proteínas plasmáticas totais (PPT), proteínas totais séricas (PTS), albumina (ALB), globulinas (GLOB), creatinina (CR), uréia (UR), ácido úrico (AU) e creatina-kinase (CK) de <i>Ara arauana</i> , levando em considerando os diferentes grupos de acordo com sexo, manejo e contenção e contendo valores do grupo como um todo, representado como totais	24
Tabela 5 – Valores de AST, ALT, FA, GGT, TRI, COL, AMIL, e LIP de <i>Ara arauana</i> , levando em considerando os diferentes grupos de acordo com sexo, manejo e contenção e contendo valores do grupo como um todo representado como totais	26

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Captura de <i>Ara ararauna</i> em viveiro na Fundação RIOZOO	2
Figura 2 – Frasco com líquido de Drabkin demonstrando o acúmulo de núcleo ao fundo após centrifugação	18
Figura 3 – Método do microhematócrito	19
Figura 4 – Aparência celular apresentada na Câmara de Neubauer <sup>improved</sup> (aumento de 400 vezes)	19

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>1</b>
2.1 Taxonomia	1
2.2 Biologia	1
2.3 Contenção	2
2.4 Interferência da Contenção Química	2
2.5 Amostragem Sanguínea	3
2.6 Anticoagulantes	3
2.7 Hemograma completo	4
2.7.1 Esfregaços sanguíneos	4
2.7.2 Contagem celular	4
2.7.3 Morfologia e funções celulares nas aves	5
2.7.3.1 Eritrócitos	5
2.7.3.2 Leucócitos	5
2.7.3.2.1 Heterófilos	5
2.7.3.2.2 Eosinófilos	6
2.7.3.2.3 Basófilos	6
2.7.3.2.4 Monócitos	6
2.7.3.2.5 Linfócitos	7
2.7.3.3 Trombócitos	7
2.8 Enzimologia	7
2.8.1 Alanino aminotransferase (ALT ou TGP)	7
2.8.2 Amilase(AMIL)	8
2.8.3 Aspartato aminotransferase (AST ou TGO)	8
2.8.4 Creatinina kinase (CK)	9
2.8.5 Fosfatase alcalina (FA)	9
2.8.6 Gama Glutamiltransferase (GGT)	10
2.8.7 Lipase (LIP)	10
2.9 Metabólitos	10
2.9.1 Ácido úrico (AU)	10
2.9.2 Colesterol (COL)	11
2.9.3 Creatinina (CR)	11
2.9.4 Proteínas totais (PT)	11
2.9.5 Triglicerídeos (TRIG)	12
2.9.6 Uréia (UR)	12
2.10 Fatores de Influência nos Resultados Laboratoriais	12
2.11 Valores de Referência	13
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>17</b>
3.1 Local do Estudo	17
3.2 Amostra Estudada	17

3.3 Coleta Sanguínea	17
3.4 Processamento	18
3.4.1 Hemoglobinometria (Hb)	18
3.4.2 Microhematócrito (VG)	18
3.4.3 Hematimetria, Leucometria, Trombocitometria	19
3.4.4 Volume globular médio	19
3.4.5 Concentração de hemoglobina globular média	20
3.4.6 Leucometria específica	20
3.4.7 Proteínas plasmáticas	20
3.4.8 Bioquímicas séricas	20
<b>4 RESULTADOS</b>	<b>21</b>
<b>5 DISCUSSÃO</b>	<b>28</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>29</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>30</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>33</b>
A - Tabela com a determinação do sexo, valores de hemoglobina (Hb), hematimetria (Hem), volume globular (VG), concentração de hemoglobina globular média (CHGM), volume globular médio (VGM) e leucometria global (LG)	33
B - Tabela com os valores relativos de eosinófilos (Eo), basófilos (Baso), segmentados (Seg), linfócitos (Lin) e monócitos (M), e com os valores de trombocitometria (T) e proteínas totais plasmáticas (PPT) e séricas (PTS)	36
C - Tabela com a identificação dos animais e valores de Creatinina, Uréia, Ácido Úrico, Albumina, Globulina, AST, ALT, FA, GGT, Triglicerídeos, Colesterol, Lipase, Amilase e CK	39

## 1. INTRODUÇÃO

Os psitacídeos podem ser encontrados em todo globo terrestre e têm sido amplamente utilizados como animais de estimação, sendo a maioria oriunda do tráfico de fauna. O censo mundial de psittaciformes ameaçados de extinção, realizado pela Bird Life International em 1994, revelou que 86 espécies de psitacídeos estão sob risco de extinção (CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007). A justificativa para o fato dos psitacídeos serem as aves mais ameaçadas é baseada na grande vulnerabilidade desses animais, que ocorre devido ao tráfico ilegal, destruição de habitat, confecção de artesanatos com suas penas, introdução de espécies exóticas invasoras, endogamia, entre outros (CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007 apud GALETTI, GUIMARÃES, MARSDEN, 2002; CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007 apud BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2000).

A crescente procura por psitacídeos como animais de estimação, aliada à necessidade de preservação da espécie, torna de extrema importância o conhecimento de parâmetros fisiológicos dos mesmos. Somente assim é possível obter interpretações corretas dos resultados obtidos através de técnicas diagnósticas veterinárias.

Além disso, as aves têm como característica geral a demonstração tardia de sinais clínicos ao enfrentar um estado patológico, característica esta desenvolvida pelo processo evolutivo visando minimizar a predação. Dessa forma exames complementares, como os exames laboratoriais, na maioria das vezes, são capazes de detectar alterações que ainda não são perceptíveis clinicamente.

O estudo visou identificar os valores hematológicos e bioquímicos de normalidade para o psitacídeo da espécie *Ara ararauna*, de acordo com o sexo e ainda avaliar a influência da anestesia com isoflurano nos valores hematológicos para a espécie.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Taxonomia

Há divergências com relação ao número de famílias da Ordem Psittaciforme, que compreende aves de distribuição cosmopolita. Alguns autores afirmaram haver, na Ordem Psittaciforme, apenas uma Família (Psittacidae), outros acreditam que há 3 Famílias, dentre elas a Loridae, Cacatuidae e Psittacidae. Existem ainda autores que asseguram a presença de duas famílias: Psittacidae e Cacatuidae. Existem cerca de 78 gêneros e 332 espécies de psitacídeos, ocorrendo 148 ocorrem no Novo Mundo, sendo 100 encontradas na América do sul, e destas, 80 no Brasil (CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007)

### 2.2. Biologia

A maioria das espécies de psitacídeos é monomórfica, e todas realizam uma muda de penas por ano, se alimentam de sementes, frutos e flores, apresentando necessidades nutricionais mais elevadas quando em fase reprodutiva. O gênero *Ara ararauna* pesa de 1000 – 1100 gramas, possui longevidade superior a 75 anos e atinge maturidade sexual entre 5-7 anos.(CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007)

### 2.3 Contenção

A contenção para qualquer procedimento em aves deve ser realizada de forma segura e pelo menor tempo possível. Tal fato se torna importante porque tais animais apresentaram elevado nível de estresse quando manipulados, situação esta que atinge mais aves de pequeno porte. Além do mal-estar causado no paciente, o estresse pode ainda alterar valores hematológicos do mesmo. A contenção mecânica quando realizada de forma correta e eficiente, pode ser a única forma de contenção necessária para pequenos procedimentos em aves, até mesmo em aves de maior porte como psitacídeos. Deve-se manter o esterno do animal livre, facilitando a respiração, e os membros bem contidos para evitar lesões. Vantagens podem ainda ser obtidas colocando um pano que funcione como uma venda nos olhos da ave, já que a maioria dos animais apresenta grande redução do estresse com tal procedimento. A contenção química deve ser utilizada apenas quando estritamente necessária para manter a segurança das pessoas envolvidas no procedimento (CAMPBELL, ELLIS, 2007)



Figura 1 – Captura de *Ara ararauna* em viveiro na Fundação RIOZOO

### 2.4 Interferência da Contenção Química

Ao submeter 29 aves da espécie *Falco sparverius* a coleta sanguínea com posterior anestesia com isoflurano e nova coleta após 10 minutos, demonstrou-se alteração em concentrações de potássio e do ácido úrico (DRESSEN, WIMSAT, BURKHARD, 1999). Entretanto, um estudo que comparou os efeitos da contenção química e da mecânica em *Pteropus hypomelanus*, provou que a restrição química com isoflurano era a que causava menos alterações naqueles parâmetros (HEARD, HUFT, 1998). Em um estudo com o mamífero ferret, o uso de isoflurano gerou decréscimo de variáveis hematológicas, logo após a indução anestésica, sendo que os valores eritrocitários diminuíram em porcentagem maior do que a leucometria e as proteínas plasmáticas após a indução, entretanto, ao longo da anestesia esses valores caíram mais. Após 45 minutos da recuperação anestésica os valores voltaram à normalidade (MARINI, 1994).

## 2.5 Amostragem Sanguínea

Uma ave sadia possui de 6 – 12% (CAMPBELL, ELLIS, 2007), ou seja, aproximadamente 10 % do seu peso total é volume sanguíneo (RUPLEY, 1999), sendo segura a coleta de 1% do peso corporal de uma ave saudável em sangue (RUPLEY, 1999; BIRCHARD, FUDGE, 2000; SHERDING, 2003; THRALL *et al.*, 2004), a menos que a mesma se encontre anêmica ou hipovolêmica (RUPLEY, 1999). Porém é correto optar pela coleta da menor amostra possível para a realização dos exames (PETRAK, 1982; BENEZ, 2001). O volume total de sangue pode variar entre as espécies (CAMPBELL, ELLIS, 2007) e até mesmo entre os sexos, sendo que algumas fêmeas de *Gallus gallus domesticus* possuem maior volume sanguíneo que os machos da mesma espécie (JAIN, 1993). Um psitacídeo hígido pode perder 10% do seu volume sanguíneo sem que isto altere seu equilíbrio fisiológico (PHILIPS, 1999). A venipunção pode ser realizada com uma agulha de calibre entre 23 a 27G, e se for usado seringa, a sucção deve ser lenta, pois as veias de aves colabam facilmente (RUPLEY, 1999). Os locais de amostragem sanguínea devem ser escolhidos de acordo com o tamanho do animal, características peculiares da espécie, preferência do Médico Veterinário, condição física do paciente e volume necessário para as análises (CAMPBELL, ELLIS, 2007). Tais locais incluem as veias jugular direita, basílica (alar, ulnar, braquial) e metatarsais mediais (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000; CAMPBELL, ELLIS, 2007). O local ideal de coleta para psitacídeos é a veia jugular direita (PHILIPS, 1999; FUDGE, 2000; THRALL *et al.*, 2004) devido ao seu maior calibre (BIRCHARD, SHERDING, 2003), maior rapidez da coleta, menor incidência de formação de hematomas (BIRCHARD, SHERDING, 2003), possibilidade de obtenção de uma amostra maior (PETRAK, 1982) e redução do risco de coagulação da alíquota (PHILIPS, 1999). O assistente que realizar a contenção física deve manter o pescoço da ave completamente estendido, visando estabilizar a veia, já que esta tem grande mobilidade (THRALL *et al.*, 2004). Após pressionar a veia na entrada da cavidade torácica para que a mesma ingurgite, deve-se introduzir a agulha em qualquer direção e coletar a amostra com uma leve sucção (RUPLEY, 1999). Caso não haja assistentes para realizar a contenção física, deve-se optar pela contenção química (BIRCHARD, SHERDING, 2003), preferencialmente com isoflurano (FUDGE, 2000; BIRCHARD, SHERDING, 2003; CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007). Logo após a coleta deve-se pressionar o local da venipunção, objetivando a não formação de hematomas (BIRCHARD, SHERDING, 2003).

## 2.6 Anticoagulantes

Devido à dificuldade em se estocar o sangue de aves sem que este se altere, a amostra deve ser processada o quanto antes. (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994)

Tanto a heparina quanto o EDTA e o citrato de sódio podem ser usados como anticoagulantes de aves (JAIN, 1993; CAMPBELL, ELLIS, 2007), mas o EDTA (Ácido etileno diamino tetra acético) é o anticoagulante de escolha para a maioria das aves (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000; CAMPBELL, 1988; THRALL *et al.*, 2004; CAMPBELL, ELLIS, 2007). Em algumas aves, entretanto, o uso de EDTA pode gerar hemólise ou anticoagulação incompleta (CAMPBELL, ELLIS, 2007). Em araras, o uso de EDTA permite que a amostra seja processada seguramente dentro de um prazo de 12 horas, segundo estudos realizados (HARR, RASKIN, HEARD, 2005).

A heparina é o anticoagulante de escolha quando for necessário realizar perfil bioquímico e hematológico para uma ave, já que com uma amostra única é possível realizar uma série de exames. Tal fato é de extrema importância quando a alíquota é proveniente de um animal de

pequeno porte, no qual o volume a ser retirado é restritamente baixo. O plasma deve ser separado do restante dos componentes sanguíneos o mais rapidamente possível visando evitar alterações *in vitro*. Um exemplo prático desse tipo de alteração é o declínio na concentração de potássio que ocorre em galinhas de 10 % em 10 minutos de demora na separação e de 65% em 2 horas. Tal fato demonstra a importância de incluir no laudo o anticoagulante usado, caso este tenha sido empregado, a metodologia utilizada, a hora da coleta e a de processamento da amostra, diminuindo o risco de interpretações errôneas. (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). O sangue heparinizado pode originar colorações celulares diferenciadas, o que pode gerar contagens errôneas dos leucócitos devido à pobre morfológica celular causada pelo anticoagulante (CAMPBELL, ELLIS, 2007). O clínico deve estar atento à quantidade ideal de anticoagulante para o volume sanguíneo a ser retirado, caso contrário, podem ocorrer diluições ou coagulação amostral (CAMPBELL, ELLIS, 2007).

## **2.7. Hemograma Completo**

### **2.7.1. Esfregaços sanguíneos**

O esfregaço deve ser realizado imediatamente após a coleta sanguínea (PHILIPS, 1999), preferencialmente sem anticoagulante (BEYNON, FORBER, LAUTON, 1996; RUPLEY, 1999; FUDGE, 2000) porque a heparina pode interferir na coloração e o EDTA pode causar lise celular em algumas aves (RUPLEY, 1999). As colorações comumente utilizadas para o exame do sangue aviário incluem Wright, Wright-Giemsa, Wright-Leishman e May Grunwald-Giemsa (THRALL *et al.*, 2004)

### **2.7.2. Contagem celular**

Os aparelhos hematológicos automatizados têm sido usados rotineiramente em laboratórios veterinários. Essa tecnologia utiliza a impedância, que mensura o número e as propriedades elétricas das partículas que atravessam certa abertura, mas esses contadores não podem ser usados em aves, já que a presença de núcleo nos eritrócitos irá interferir na contagem leucocitária. A citometria de fluxo à laser é baseada no índice de refração das partículas, permitindo a contagem total e diferencial de leucócitos. Entretanto, a grande variabilidade morfológica das células entre as espécies aviárias pode gerar contagens inexatas, necessitando de comandos diferentes para cada espécie de ave. Além do mais, os trombócitos são corriqueiramente confundidos com linfócitos pequenos, pelo programa (FUDGE, 2000).

Já que fatores como a presença de núcleo em eritrócitos e trombócitos, similaridade entre o tamanho de eritrócitos e leucócitos, e entre os trombócitos e pequenos linfócitos interferem nos métodos automatizados de contagem das células brancas (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000), métodos manuais diretos e indiretos têm sido desenvolvidos (COSTELLO, 1970; DEIN, WILSON, FISCHER, 1994). O método manual de análise sanguínea de psitacídeos inclui os mesmos procedimentos de rotina realizados em mamíferos, com pequenas modificações, como na hemoglobinometria (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000). Uma nova metodologia para a contagem de elementos figurados sanguíneos em aves, répteis, anfíbios e peixes consiste na realização de uma única diluição, utilizando Novo Azul de Metileno e Salina fisiológica (0,9%), evidenciando eritrócitos, leucócitos e trombócitos (NASCIMENTO *et al.*, 2006). A contagem leucocitária diferencial é estabelecida através da contagem de 100 leucócitos e de uma determinação da porcentagem de cada tipo leucocítico (RUPLEY, 1999),

mas há autores que recomendam contagem de 200 células (FUDGE, 2000). Ao multiplicar cada tipo leucocítico pela contagem total obtemos a contagem absoluta (RUPLEY, 1999).

### **2.7.3. Morfologia e funções celulares das aves**

#### **2.7.3.1. Eritrócitos**

Os eritrócitos maduros são elípticos com núcleo central também elíptico e cromatina nuclear uniformemente agrupada (THRALL *et al.*, 2004). A expectativa de vida das hemácias aviárias é de 28 a 45 dias (ALTMAN *et al.*, 1997; RUPLEY, 1999), e a idade celular torna a cromatina nuclear mais condensada (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000). Os eritrócitos policromatófilos são mais basofílicos e sua cromatina nuclear é menos condensada (PHILIPS, 2000). Utilizando a coloração de Wright o núcleo se apresenta arroxeadado enquanto que o citoplasma rosa-alaranjado com textura uniforme (RUPLEY, 1999; FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000). Os eritrócitos de aves são comparativamente maiores do que as de mamíferos, e seu tamanho elevado aumenta a capacidade de carrear oxigênio, importante devido à alta demanda do sistema respiratório (ALTMAN *et al.*, 1997). A afinidade da hemoglobina aviária é a mesma da dos mamíferos, sendo que as características da barreira gás/sangue conferem uma difusibilidade de 3-4 vezes maior que nos mamíferos (MACARI, FURLAN, 1994). A presença de eritrócitos policromáticos em até 5% é considerado normal (FORBER, LAUTON, 1996; RUPLEY, 1999; FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000; THRALL *et al.*, 2004) e a sua determinação pode ser realizada através de colorações com o novo azul de metileno (CAMPBELL, 1988; HAWKEY, DENNETT, 1989). A recuperação de perdas agudas sanguíneas em aves é mais rápida que em mamíferos; relatos em *Coturnix coturnix japonica* submetida à perda de 30% do seu volume sanguíneo, comprovaram que a espécie reparou sua hematimetria em 72 horas, enquanto que em humanos a redução de 15 % do volume sanguíneo gera anormalidades nos índices hematimétricos que só são recuperadas em 40 dias. Em aves a rápida reposição dos valores eritrocitários normais ocorre através da rápida estimulação da medula, e não devido ao estoque de eritrócitos do baço como e mamíferos. As aves também recuperam o volume plasmático mais rapidamente que os mamíferos.

#### **2.7.3.2. Leucócitos**

Os leucócitos encontrados no sangue incluem os granulócitos (heterófilos eosinófilos, basófilos) e as células mononucleares (linfócitos, monócitos) (THRALL *et al.*, 2004). Em psitacídeos sadios apenas leucócitos maduros são encontrados no sangue periférico (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000). A leucocitose pode ocorrer devido a infecções, estresse, e a desordens neoplásicas e degenerativas. Geralmente a leucocitose é causada por heterofilia, sendo rara a primeira ultrapassar a contagem de 80.000 cel/ $\mu$ l em *Amazona sp.*. Em qualquer espécie aviária uma contagem leucocítica abaixo de 3.000 cel/ $\mu$ l é considerada baixa. No caso de leucopenias não ocasionadas por artefatos técnicos (ALTMAN *et al.*, 1997), deve-se levantar a hipótese de infecções bacterianas, doenças virais severas ou presença de substâncias tóxicas (ALTMAN, 1997 apud ROSSKOPF, WOERPEL, 1991; ALTMAN, 1997 apud FUDGE, 1989).

##### **2.7.3.2.1. Heterófilos**

Os heterófilos são os leucócitos mais abundantes nas aves (ALTMAN *et al.*, 1997; RUPLEY, 1999; FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000; THRALL *et al.*, 2004). Possuem, quando maduros, granulações citoplasmáticas eosinofílicas (RUPLEY, 1999; THRALL *et al.*, 2004) que se apresentam comumente alongadas (RUPLEY, 1999) e que na maioria da vezes

escondem de forma parcial o núcleo celular(CAMPBELL, ELLIS, 2007). Essa granulação é constituída de grânulos primários, secundários e terciários, como descrito em estudos ultraestruturais, de forma que os secundários são os encontrados em maior volume e possuem um corpo central circular dentro do grânulo fusiforme(CAMPBELL, ELLIS, 2007). O citoplasma dos heterófilos é basofílico, possuindo núcleo bi ou trilobado (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000; THRALL *et al.*, 2004) de coloração basofílica pálida (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000). Em doenças sistêmicas severas eles apresentam alterações tóxicas assim como ocorre em mamíferos(CAMPBELL, ELLIS, 2007). Heterófilos imaturos são raramente observados em psitacídeos, mas podem ser identificados pelo aumento da basofilia citoplasmática, diminuição do número de lobos nucleares e presença de grânulos imaturos (PHILIPS, 1999). Os heterófilos possuem função análoga a dos neutrófilos nos mamíferos, sendo altamente fagocitários, com considerável atividade bactericida e participação em processos inflamatórios(CAMPBELL, ELLIS, 2007)A heterofilia deve ser esperada em inflamações agudas, processos infecciosos e leucogramas de estresse (ALTMAN *et al.*, 1997). As aves do gênero Amazona possuem uma contagem menor de heterófilos quando comparados com outras aves (ALTMAN *et al.*, 1997).

#### 2.7.3.2.2 Eosinófilos

Os eosinófilos são do mesmo tamanho dos heterófilos (RUPLEY, 1999; CAMPBELL, ELLIS, 2007), mas possuem citoplasma basofílico (RUPLEY, 1999; FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000; THRALL *et al.*, 2004; CAMPBELL, ELLIS, 2007), núcleo bilobado com cromatina agrupada (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000) de coloração mais escura do que nos heterófilos (CAMPBELL, ELLIS, 2007) e grânulos citoplasmáticos eosinofílicos arredondados, grandes e palidamente corados (PHILIPS, 1999). Em colorações à base de Romanowsky, os grânulos podem parecer fracamente corados ou até mesmo corar com um tom basofílico claro (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000; CAMPBELL, ELLIS, 2007). Algumas diferenças na aparência celular inter-espécies podem ocorrer (PHILIPS, 1999). Em aves clinicamente sadias, é incomum a presença de eosinófilos no sangue periférico e, apesar da sua função não ser bem elucidada (PHILIPS, 1999), a eosinofilia ocorre associada a parasitismos (ALTMAN *et al.*, 1997), mas mesmo assim seu aumento não ocorre na mesma intensidade encontrada em mamíferos (PHILIPS, 1999).

#### 2.7.3.2.3 Basófilos

Os basófilos são redondos e pequenos (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000), com citoplasma preenchido por grânulos metacromáticos que podem cobrir o núcleo (RUPLEY, 1999; THRALL *et al.*, 2004; CAMPBELL, ELLIS, 2007), que usualmente não apresenta lobos (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000), tornando tais células semelhantes aos mastócitos de mamíferos(CAMPBELL, ELLIS, 2007). A ocorrência de basófilos no sangue periférico é incomum (ALTMAN *et al.*, 1997), mas a basofilia pode ser observada em aves com infecções respiratórias, lesões teciduais (ALTMAN, 1997 apud ROSSKOPF, WOERPEL, 1991; ALTMAN, 1997 apud FUDGE, 1989), inflamação aguda, reação anafilática ou estresse severo (MAXWELL, 1993).

#### 2.7.3.2.4 Monócitos

Os monócitos são células grandes, redondas, pleomórficas (RUPLEY, 1999; FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000), de citoplasma cinza-azulado e com núcleo excêntrico de oval a bilobado (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000). Apesar de raramente encontrados, o

aumento do número de monócitos ocorre em doenças crônicas (ALTMAN *et al.*, 1997). Alguns autores relatam que os monócitos são leucócitos mais comumente encontrados nos esfregaços sanguíneos de aves (JAIN, 1993).

#### 2.7.3.2.5 Linfócitos

Os linfócitos possuem citoplasma fracamente basofílico e homogêneo (RUPLEY, 1999; FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000), núcleo central arredondado com cromatina nuclear reticulada ou densamente agrupada (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000). A membrana citoplasmática ocasionalmente apresenta pseudópodes (PHILIPS, 1999). A identificação dos linfócitos pode ser difícil, pois os linfócitos pequenos se assemelham aos trombócitos e os grandes aos monócitos (PHILIPS, 1999). Classificados como segundo grupo celular mais frequentemente encontrado no sangue periférico das aves, os linfócitos são mais regularmente achados em aves do gênero Amazona (CAMPBELL, 1988), e relatados por alguns como tipo celular mais freqüente em psitacídeos (PHILIPS, 2000). A linfocitose é rara e a linfopenia geralmente é relativa devido à heterofilia (ALTMAN *et al.*, 1997). A resposta imunológica de aves adultas e jovens podem ter uma expressão diferente (HOWLETT *et al.*, 2002)

#### 2.7.3.3. Trombócitos

Os trombócitos maduros são ovais com núcleo também oval (RUPLEY, 1999) formados por cromatina densa e com citoplasma levemente basofílico (RUPLEY, 1999; FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000). O trombócito aviário é análogo funcionalmente à plaqueta dos mamíferos, mas ao contrário destas o trombócito tem origem de um precursor mononuclear e não de um megacariócito como nos mamíferos (FUDGE, 2000). Além disso, os trombócitos participam da resposta imunológica inespecífica das aves, por serem células com alta capacidade de fagocitose, podendo até ser de 2 a 3 vezes mais rápida que a dos heterófilos (CAMPBELL, 1995). A concentração de trombócitos de psitacídeos varia de 20-30.000 por mm<sup>3</sup>, ou de 10 a 15 trombócitos a cada 1000 eritrócitos em aves (FOX, SOLOMON, 1981; CAMPBELL, 1988; THRALL *et al.*, 2004). Devido à tendência de agregação trombocitária muitas vezes a trombocitometria é avaliada por estimativa em lâmina (FELDMAN, ZINKL, JAIN, 2000).

## 2.8. Enzimologia

Cada célula do organismo possui uma função específica e contém enzimas para tal. Em algumas situações essas enzimas são específicas de certo tipo celular, mas por vezes podem ser encontradas em uma grande variedade de tecidos. Uma alteração celular pode gerar a liberação dessas enzimas, que uma vez no soro podem ser mensuradas. (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994)

### 2.8.1. Alanino aminotransferase ( ALT ou TGP )

As aminotransferases estão incluídas num grupo de enzimas que catalizam a conversão de aminoácidos em oxiácidos, pela transferência de um grupamento amina. Esta cascata é realizada por várias enzimas, mas ALT e AST são as de maior relevância (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Ao contrário do que ocorre em alguns mamíferos, nas aves a ALT não é hepatoespecífica, podendo ser encontrada em diversos tecidos (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994; FUDGE, 2000) como rins, fígado e musculatura (FRANSON *et al.*, 1985). A baixa atividade enzimática da ALT no fígado pode

ser demonstrada pelo fato de diversas aves com desordens hepáticas não apresentarem alterações nos níveis séricos da enzima. Em alguns animais a atividade da ALT é tão baixa que não pode ser detectada pelos analisadores usados rotineiramente (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Sua atividade no fígado é mais elevada em aves piscívoras e carnívoras do que em aves onívoras (CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007). Devido às características já mencionadas, uma elevação as concentrações séricas de ALT é de difícil interpretação. O processo de hemólise pode alterar concentrações desta enzima, já que a sua atividade dentro dos eritrócitos é 1,6 vezes a encontrada no plasma (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Na grande maioria das aves saudáveis a ALT varia de 19 a 50 UI/L (TRHALL et al, 2004)

### **2.8.2. Amilase (AMIL)**

A AMIL sérica compreende diversas isoenzimas, derivadas principalmente do fígado, pâncreas e intestino, porém sua diferenciação nas aves ainda não foi realizada, impossibilitando o reconhecimento do tecido de origem. Há pouca informação sobre a dosagem de amilase em aves, porém ela parece ser útil no diagnóstico de dilatação gástrica neuropática. O aumento enzimático pode ser visto nas pancreatites agudas e nesses casos o resultado de sua determinação pode exceder 3 vezes o valor de normalidade (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994), porém relatos incluindo causa e efeito da pancreatite em aves são raros. A intoxicação com zinco pode causar pancreatite ou necrose pancreática. Algumas doenças virais podem afetar as aves, como aquelas por herpesvírus, paramixovírus, influenza aviária e infecções por adenovírus. A clamidiose pode gerar pancreatite em psitacíformes e aves de rapina. A peritonite por retenção de ovo é comum em aves e pode gerar pancreatite (FUDGE, 2000). Atividades um pouco menores do que duas vezes o limite superior são encontradas em enterites severas, mesmo sem haver pancreatite (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994), sendo que uma certa elevação também ocorre em mamíferos (FUDGE, 2000).

### **2.8.3. Aspartato aminotransferase (AST ou TGO)**

Da mesma forma que ocorre em mamíferos, a AST pode ser encontrada tanto em musculatura cardíaca e esquelética quanto em fígado (FUDGE, 2000), mas além desses órgãos a mesma ocorre nos rins e cérebro e sua distribuição varia em função da espécie (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Um estudo realizado com três diferentes espécies aviárias demonstrou que a AST é encontrada em quantidade mais significativa no fígado. Mesmo assim, a possibilidade de tal enzima ser encontrada em outros tecidos além do fígado torna inútil a sua dosagem sem a mensuração de outras enzimas que possibilitem uma interpretação conjunta (FRANSON et al., 1985). Como elevações na AST são geralmente indicativas de desordens hepáticas ou musculares, a CK é dosada para realizar essa interpretação conjunta, já que o aumento da mesma só ocorre em lesões musculares. Atividades anormais são encontradas em deficiência de vitamina E, selênio e metionina, desordens hepáticas (principalmente a psitacose e a doença de Pacheco), intoxicação por pesticidas e doenças musculares. Na maioria das injeções intramusculares irritantes ocorre aumento da CK, não seguido de aumento da AST, mas em algumas espécies pode ocorrer um aumento simultâneo (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Quando a atividade plasmática da AST se encontra acima de 275 IU/L, em qualquer ave é sugestivo de aumento na atividade, sendo que um aumento maior que 800UI/L indica severa lesão hepática, especialmente quando associado com biliverdinúria e biliverdinemia (THRALL et al, 2004)

#### **2.8.4. Creatina kinase (CK)**

Segundo alguns pesquisadores, a CK pode ser encontrada tanto em fígado e rins quanto na musculatura, mas como nos dois primeiros sua concentração é ínfima, esta enzima é predominantemente marcadora de lesões musculares (VALLER et al., 2008), assim como em mamíferos (FUDGE, 2000). Porém, outros estudiosos afirmam que esta enzima pode ser encontrada apenas na musculatura esquelética e cardíaca e no tecido nervoso. Na musculatura essa enzima torna o ATP disponível para o ato de contração através da fosforilação do ADP em creatinina fosfato. Há três formas isoenzimáticas do CK que podem ser separadas por eletroforese, o que em mamíferos permite verificar o tecido de origem, porém, não há estudos da separação dessas isoenzimas em aves. A elevação desta enzima geralmente está relacionada com lesões musculares, podendo então ser utilizada para diferenciar lesões hepáticas de musculares, atentando sempre para a possibilidade de haver lesão nos dois tecidos mencionados. Em mamíferos a atividade da CK sofre influência de diversos fatores como massa corporal, sexo, idade e atividade física, sendo que algumas dessas alterações fisiológicas são conhecidas e descritas em aves. Nos anseriformes, por exemplo, ela é extremamente sensível ao estresse físico e ao exercício. Diferenças de acordo com o sexo também foram observadas nas aves (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Um estudo com *Plegadis ridgwayi* demonstrou que machos possuem um valor de CK mais elevado, mas este foi atribuído à liberação enzimática causada pelo estresse de contenção, associado à maior massa muscular no sexo em questão (VALLER et al., 2008). Deve-se atentar para o fato da CK retornar ao valor de normalidade com mais rapidez do que a AST, o que pode fazer com que uma lesão muscular passada seja interpretada como lesão hepática devido ao período da coleta (THRALL et al., 2004). Aumentos na atividade de CK têm sido atribuídos a necrose muscular, convulsões, injeção intramuscular (variando de acordo com o volume e irritabilidade da substância), deficiência de vitamina E e selênio, neurotoxicoses, intoxicação por chumbo e ocasionalmente clamidiose (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). O valor de normalidade da CK, na maioria das espécies varia de 100 – 500 UI/L (THRALL et al., 2004)

#### **2.8.5. Fosfatase alcalina (FA)**

Atividade de FA é encontrada predominantemente nos rins e duodeno, mas pode ser encontrada em diversos tecidos, ou seja, sua elevação não possui importância específica (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). No fígado ela não está presente em quantidades suficientes para ser significativa (FUDGE, 2000), porém, um aumento na sua atividade geralmente é reflexo de uma desordem hepática (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994) mesmo não sendo um indicador sensível para detectar doenças hepatobiliares em aves (THRALL et al., 2004; CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007). Devido à atividade osteoblástica que ocorre na fase de crescimento, as aves mais jovens apresentam valores mais elevados quando comparadas aos animais adultos. Pelo mesmo princípio, o hiperparatireoidismo (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994; CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007;) e os processos de consolidação de fraturas geram aumento da atividade desta enzima (CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007). As enterites também podem gerar elevações significativas. Alguns autores afirmam que a intoxicação por aflatoxina em diversas espécies aviárias não é capaz de gerar aumento sérico da FA (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994), enquanto outros acreditam que em casos de

necrose hepática induzida por aflatoxina B1 há tal aumento (VALLER et al., 2008). Uma diminuição do seu nível é encontrada em animais com carência de zinco (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Apesar da elevação de FA ser mais comum em animais jovens, um estudo com *Puna ibis* demonstrou que esta é mais elevada em animais adultos, o que foi correlacionado com um possível quadro de aflatoxicose, observado pelo histórico alimentar (VALLER et al., 2008).

#### **2.8.6. Gama glutamiltransferase (GGT)**

A atividade da GGT no fígado é muito baixa (FUDGE, 2000) e sua determinação não é um teste sensível para aves por não se encontrar elevada em doenças hepáticas nem renais, apesar de possuir atividade nesses tecidos (CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007).

#### **2.8.7. Lípase (LIP)**

A LIP é produzida pelo pâncreas e altas atividades são encontradas em animais com pancreatite aguda (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994) (FUDGE, 2000).

### **2.9. Metabólitos**

Os metabólitos estão relacionados com a capacidade funcional do órgão, por isso os testes são direcionados para produtos finais de metabolismo final (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994).

#### **2.9.1. Ácido úrico (AU)**

O AU é o composto nitrogenado excretado em maior quantidade nas aves e sua síntese, a partir das purinas, ocorre no fígado e parcialmente nos rins (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994; FUDGE, 2000; HARR, 2002; THRALL et al., 2004). Nos mamíferos, a taxa de filtração glomerular (TFG) deve ser constante para que ocorra a eliminação dos compostos nitrogenados, fato este que não ocorre em aves, já que excretam os compostos nitrogenados por secreção e não por filtração. Dessa forma, a TFG só afeta a concentração de ácido úrico em casos em que a taxa se encontra extremamente diminuída, ou seja, somente pacientes severamente desidratados apresentam aumento de AU. Em aves carnívoras, elevações significantes podem ocorrer após a ingestão de alimento rico em proteínas. Para alguns autores, o uso dos níveis séricos de AU não demonstrou ser um parâmetro seguro para a avaliação da função renal em aves (FUDGE, 2000), enquanto outros afirmam que a hiperuricemia é boa indicadora de lesão renal (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Ainda é duvidoso se o aumento de AU pode refletir um dano tubular ou um quadro de desidratação severa em aves não carnívoras, já que níveis normais de AU já foram encontrados em aves com doenças renais severas. Porém, tal fato pode ser consequência de uma desordem na produção, como encontrado em doenças hepáticas ou em hiporexias, mas também em desordens de filtração, já que muito animais com falência renal apresentam poliúria (FUDGE, 2000). Um estudo com *Plegadis ridgwayi* demonstrou que animais mais jovens apresentavam valores mais elevados de AU, tendo sido correlacionado com a dieta mais rica em proteínas oferecida a esse grupo de animais (VALLER et al., 2008). O AU é excretado primariamente por secreção tubular e independe da reabsorção de água. Os valores de normalidade variam de acordo com uma série de fatores como idade, sexo, espécie, dieta, entre outros. Os valores de AU em animais jovens são menores quando comparados com

animais adultos, e em carnívoras mais elevados que em granívoras (HARR, 2002; TRHALL et al., 2004; CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007). Em geral uma concentração acima de 15mg/dL é bastante sugestiva de lesão renal, seja ela por nefrotoxicose (aminoglicosídeos), obstrução urinária, nefrite, nefrocalcinose ou nefropatias causadas por hipovitaminose A. Necroses teciduais e longos períodos de jejum também elevam os níveis de AU devido ao catabolismo dos compostos nitrogenados (TRHALL et al, 2004). Quando a concentração de AU está elevada, este precipita nos tecidos gerando a gota úrica (CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007), podendo atingir uma elevação de 5 vezes o valor de normalidade (TRHALL et al, 2004). É necessária uma lesão de 75% dos rins para que o AU se encontre elevado, o que faz dele um teste pouco sensível de lesão renal. Apesar de ser bastante utilizado, valores dentro da normalidade não garantem a integridade do órgão (CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007). A hipouricemia é raramente encontrada nas aves, porém quando ocorre é sugestiva de falência hepática (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994).

### **2.9.2. Colesterol (COL)**

O COL é um lipídeo precursor de todos os hormônios esteróides e ácidos biliares, assim como de todas as membranas celulares. O COL pode ser sintetizado no fígado ou pode ser proveniente de proteína animal. Tem um valor diagnóstico pobre em aves, apesar da grande influência fisiológica e patológica que pode sofrer. Níveis de COL muito altos geralmente são acompanhados de lipemia e são resultado de uma degeneração gordurosa hepática. Aves carnívoras possuem uma concentração maior de COL, quando comparadas às aves granívoras. Elevações podem ocorrer em casos de hipotireoidismo, desordem hepática, obstrução de ducto biliar, dietas ricas em gordura e anorexia (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994; CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007). Concentrações elevadas já foram detectadas em budgerigars com xantomase. O decréscimo pode ser associado a desordens hepáticas, aflatoxinas, nível reduzido de gordura na dieta e enterotoxemia por *Escherichia coli* (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Um estudo com *Puna ibis* demonstrou que os valores de COL em adultos eram mais elevado e tal fato foi correlacionado com a quantidade superior de sementes de girassol que esse grupo de animais recebia, já que dietas ricas em gordura levam à hipercolesterolemia (VALLER et al., 2008).

### **2.9.3. Creatinina (CR)**

A CR sérica é principalmente derivada do catabolismo de creatina do tecido muscular. Em aves a creatina é excretada pelos rins antes da sua transformação em CR e é por isso que sua avaliação não resultada em dados confiáveis de função renal. Doenças renais severas podem gerar o aumento da CR, especialmente se a taxa de filtração glomerular estiver diminuída. Aumentos na sua concentração também já foram descritos em casos de peritonite por retenção de ovo, septicemia, trauma renal e pelo uso de drogas nefrotóxicas (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Alguns autores afirmam que a CR não possui valor diagnóstico nas aves (CUBAS, SILVA, CATÃO-DIAS, 2007) e ainda que alterações na sua concentração não são indicativas de doenças renais (FUDGE, 2000).

### **2.9.4. Proteínas Totais (PT)**

As concentrações de PT podem ser determinadas tanto no plasma (PPT) quanto no soro (PTS). Em pombos, a concentração das proteínas no plasma é 1,5 vezes maior do que no soro devido ao fibrinogênio. O método da refratometria pode ser usado para medição, mas amostras lipêmicas, por exemplo, não podem ser examinadas. A icterícia e a hemólise

moderadas não alteram os valores. Em mamíferos, a hiperglicemia altera os valores medidos pelo refratômetro. A maior parte das proteínas plasmáticas, com exceção das proteínas hormonais e imunoglobulinas, são produzidas pelo fígado. As PTs têm valor diagnóstico em doenças gastrointestinais, renais e hepáticas, entretanto estarão alteradas em doenças infecciosas que gerem estimulação antigênica. A hipoproteïnemia pode ser resultado da diminuição na síntese, em hepatopatias crônicas, ou da má absorção, devido a enterites crônicas (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). No entanto, a hipoproteïnemia é um achado raro nas aves (CUBAS, SILVA, CVATÃO-DIAS, 2007). Um aumento na perda de proteínas também pode ser um fator de hipoproteïnemias, como o que ocorre em doenças renais, perdas sanguíneas e tumores malignos (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Quanto maior o VG, menor será o valor de PT, e esse mecanismo é o que permite que animais com alto VG mantenham sua viscosidade sanguínea dentro da normalidade (PALOMEQUE, PINTO, VISCOR, 1991). Nas aves as proteínas plasmáticas geralmente se encontram entre 2,5 – 4,5 g/dL, sendo a ALB responsável por 40 a 50% desse valor (THRALL et al., 2004)

#### **2.9.5. Triglicerídeos (TRI)**

Os TRI são sintetizados na mucosa intestinal e fígado a partir de componentes da digestão das gorduras. Os valores de TRI variam com uma série de fatores como sexo, clima e influência hormonal (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994).

#### **2.9.6. Uréia (UR)**

A quebra de proteínas no fígado gera como metabólito a UR, que é excretada por filtração glomerular. A concentração sérica de UR pode estar relacionada com a ingestão de proteínas, principalmente as derivadas do catabolismo nucleoprotéico (PALOMEQUE, PINTO, VISCOR, 1991). As aves carnívoras apresentam maior concentração de UR que as granívoras e neste último grupo a concentração normal varia de 0 a 5 mg/dL (THRALL et al., 2004). Como as aves são uricotélicas, ou seja, produzem como maior composto nitrogenado o AU, a dosagem de UR não é marcadora de alterações renais (PALOMEQUE, PINTO, VISCOR, 1991). Pode ocorrer reabsorção tubular e esta é dependente do estado de hidratação do paciente. A UR está presente em quantidades muito baixas no plasma e possui pouco valor diagnóstico. Com exceção dos pombos, a UR não é marcadora de lesão renal, mas indica o perfil de hidratação do paciente (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994). Aves desidratadas apresentam aumento da UR sérica já que, diferentemente do que ocorre com o AU, ela depende da taxa de filtração glomerular para sua excreção (COKE, WEST, HOOVER, 2004), sendo utilizada como indicadora de azotemia pré-renal em algumas espécies (CUBAS, SILVA, CVATÃO-DIAS, 2007). Em comparação com o AU, a UR é a única capaz de indicar falência pré-renal (LUMEIJI, OVERDUIN, 1990).

### **2.10. Fatores que influenciam nos resultados laboratoriais**

Diversos são os fatores que podem influenciar os resultados laboratoriais. Parte desses fatores estão relacionados à técnica utilizada no processamento e experiência do patologista clínico. Entretanto, fatores outros como faixa etária, sexo, manejo, alimentação e ambiente são de mais difícil controle, podendo gerar valores errôneos nos estudos em que não se tenta controlá-los.

É sabido, por exemplo, que aves fêmeas possuem maior nível de Cálcio sérico, devido aos hormônios sexuais femininos que influenciam a hidroxilação da 25-hidroxivitamina D no rim antes da postura (Campbell apud Valle et al., 2008)

Há décadas estudos em humanos têm apontado diferenças significativas entre sexos e relacionadas ao ciclo circadiano. Assim, as mulheres possuem uma contagem de neutrófilos acima da encontrada em homens. Além disso, o número de neutrófilos é mais elevado à tarde do que pela manhã (BAIN, ENGLAND, 1975). Até mesmo diferenças hematológicas significativas entre caucasianos e negros já foram estabelecidas, sendo que estes últimos apresentam menor contagem de leucócitos, neutrófilos, plaquetas (BAIN, 1996) e hemoglobina (STANLEY, NATHAN, DIANE, 1975).

O estresse também é capaz de gerar alterações significativas nos hemogramas. Um exemplo o é estresse gerado com o ato reprodutivo ocasionado apenas nas fêmeas de *Ambystoma talpoideum* devido ao seu maior gasto energético para a produção de ovos, fato que não ocorre em machos. Tais fêmeas apresentam maior proporção neutrófilo:linfócito (DAVIS; MAERZ, 2008).

O estado nutricional do paciente também se faz importante. Ao oferecer uma dieta hipoprotéica a um grupo de ratos, foi possível observar diminuição da atividade da fosfatase alcalina, anemia microcítica normocrômica, hipoproteinemia, hipoglobulinemia e aumento na concentração de T3 e T4. (ARAÚJO et al., 2005).

Há espécies em que o local de coleta sanguínea deve ser padronizado para evitar interpretações errôneas, visto que este altera os resultados hematológicos e bioquímicos. Tal fato ocorre na *Testudo marginata*, na qual a venipunção pela veia coccigeal dorsal geralmente é acompanhada de contaminação com linfa e conseqüente diluição amostral (LOPEZ-OLVERA et al., 2003).

## **2.11. Valores de Referência**

Para qualquer população saudável os valores de normalidade estarão entre a média e o desvio padrão, lembrando que 5% da população apresentará valores fora do padrão por características unicamente individuais (TRHALL et al, 2004). Os intervalos de referência estabelecidos variam de acordo com a metodologia utilizada, e por esse motivo ao interpretar resultados laboratoriais é necessário o uso da mesma metodologia aplicada na identificação dos parâmetros de normalidade. Os resultados obtidos em dosagens bioquímicas são expressos em números acrescidos da unidade correspondente, e apesar de haver um sistema internacional para tais unidades, alguns laboratórios e pesquisadores podem fazer uso de outras, tornando necessária uma transformação de unidades (HARRISON, HARRISON, RITCHIE, 1994).

Um autor cita referências hematológicas e bioquímicas para Arara Canindé, com um “n” de 1367 espécimes, entretanto, não há nenhum dado sobre metodologia, idade ou sexo dos animais. As unidades de medida são descritas como sendo as usadas como padrão dos Estados Unidos. Os valores encontram-se na tabela abaixo (FUDGE, 2000):

Quadro 1 – Valores hematológicos e bioquímico - séricos, de *Ara ararauna*

Parâmetro	Média	m/m	Parâmetro	Média	Intervalo
LG (mm <sup>3</sup> )	12,80	8-16	VG (%)	48,70	44-55
Het (%)	60,60	49-71	Li (%)	34,70	18-53
Mo (%)	0,04	0-20	Eo (%)	NI	NI
Baso (%)	0,04	0-10	AST (U/L)	118,90	64-168
AU (mg/dL)	5,32	1,9-11	Gli (mg/dL)	279,70	210-368
CK (U/L)	219,4	92-380	COL (mg/dL)	160,7	96-249
ALB (g/dL)	0,80	0,3-1,2	FA (U/L)	60,20	32-100
PTS (g/dL)	3,50	2,5-4,2	GLOB (g/dL)	1,97	1-3,80
AMIL (U/L)	421,00	239-564	AB (µmol/L)	48,90	7-100

NI=não identificado

m/m = mínimo/ máximo

(FUDGE, 2000)

Um estudo realizado em 2004 em Araçatuba, SP, com 20 indivíduos adultos de *Ara ararauna*, submetidos ao mesmo manejo, e tendo a amostra coletada pela veia ulnar, demonstrou os seguintes resultados (BONELO;CIARLINI; AZEVEDO, 2002):

Quadro 2 - Valores mínimos, máximos e médios de eritrometria e proteína plasmática total (PPT) de araras-canindé (*Ara ararauna*) mantidas em cativeiro no município de Araçatuba – São Paulo

Parâmetro	VG (L/L)	Eritrócitos (X 10 <sup>12</sup> /L)	Hemoglobina (g/L)	VGM (fl)	CHGM (g/L)	PPT (g/L)
Mínimo	0,42	2,66	113,70	130,55	264,40	40
Máximo	0,53	3,83	153,10	171,43	325,80	56
Média	0,47	3,20	133,80	147,80	286,40	49

(BONELO;CIARLINI; AZEVEDO, 2002)

Alguns livros publicam referências que não são específicas para a espécie, abrangendo um grupo ao qual as mesmas participam, como é o caso da publicação a seguir, que indica valores para o grupo denominado Arara e não menciona a quantidade de aves utilizadas (CAMPBELL, ELLIS, 2007).

Quadro 3 – Valores de parâmetros eritrocitários e leucocitários para aves pertencentes ao grupo de Araras

Parâmetros eritrocitários	VG (%)	Eritrócitos (X 10 <sup>6</sup> /μL)	Hemoglobina (g/dL)	VGM (fl)	CHGM (%)	
Intervalo	47-55	2,7-4,5	15-17	125-170	29-35	
Parâmetros leucocitários	Leucometria (X 10 <sup>3</sup> /μL)	Heterófilo (%)	Linfócito (%)	Monócito (%)	Eosinófilo (%)	Basófilo (%)
Intervalo	7-22	40-60	35-60	0-3	0-1	0-1

(CAMPBELL, ELLIS, 2007).

Em 2008 foi publicado um artigo sobre parâmetros bioquímicos de *Ara ararauna* de acordo com a idade. Foram utilizados 11 jovens ( 6 machos e 5 fêmeas) e 24 exemplares adultos (12 machos e 12 fêmeas). Submetidos a anestesia com isoflurano tiveram amostra sanguínea de 5 mL coletada pela veia ulnar. Os resultados obtidos estão expressos nas tabela abaixo (VALLE et al., 2008).

Quadro 4 – Valores de Ácido úrico (AU), Albumina (ALB), Aspartato- aminotransferase (AST), Cálcio (Ca), colesterol (COL), Creatina kinase (CK), Fosfatase alcalina (FA), Fosfato inorgânico (Pi) , Frutosamina (FRUT), Gama –glutamilttransferase (GGT) , Proteína plasmática total (PPT) e Uréia (UR) de araras-canindé (*Ara ararauna*) fêmeas e machos adultos mantidos em cativeiro comercial.

Parâmetro	n	Intervalo de confiança (95%)		Teste M-W
		Fêmeas adultas	Machos adultos	
AU (mg dl <sup>-1</sup> )	12	2,4 – 3,8	1,9 – 3,1	P<0,05
ALB (g dl <sup>-1</sup> )	12	1,2 – 1,5	1,3 – 1,4	NS
AST (UI L <sup>-1</sup> )	12	105,1 – 130,8	108,7 – 138,6	NS
Ca (mg dl <sup>-1</sup> )	12	9,0 – 10,3	8,9 – 9,6	P<0,05
COL (mg dl <sup>-1</sup> )	12	177,8 – 230,2	177,5 – 216,9	NS
CK (UI L <sup>-1</sup> )	12	112,5 – 160,9	151,6 – 200,3	P<0,05
FA (UI L <sup>-1</sup> )	12	186,7 – 411	185,6 – 387,2	NS
Pi (mg dl <sup>-1</sup> )	12	4,9 – 6,2	5,1 – 6,4	NS
FRUTOSAMINA	12	1,1 – 1,3	1,0 – 1,2	NS
GGT (UI L <sup>-1</sup> )	12	5,4 – 8,7	6,3 – 9,5	NS
PPT (g dl <sup>-1</sup> )	12	3,3 – 3,9	3,4 – 4,0	NS

UR (mg dl <sup>-1</sup> )	12	5,0 – 7,6	4,5 – 6,1	NS
---------------------------	----	-----------	-----------	----

(VALLE et al., 2008).

Quadro 5 – Valores de AU, Albumina, AST, Cálcio, Colesterol, CK, FA, Fósforo, Frutosamina, GGT, PPT e Uréia bioquímica sanguínea de Arara Canindé (*Ara ararauna*) adultos e filhotes de ambos os sexos mantidos em cativeiro comercial .

Parâmetro	Intervalo de confiança (95%)		Teste M-W
	Adultos (n=24)	Filhotes (n=12)	
Ácido Úrico (mg dl <sup>-1</sup> )	2,3 – 3,2	3,5 – 6,2	P<0,001
Albumina (g dl <sup>-1</sup> )	1,3 – 1,5	1,5 – 1,7	P<0,001
AST (UI L <sup>-1</sup> )	111,6 – 130	118,3 – 155,7	NS
Cálcio (mg dl <sup>-1</sup> )	9,1 – 9,8	7,5 – 12,8	P<0,05
Colesterol (mg dl <sup>-1</sup> )	185,5 – 215,7	150,1 – 191,6	P<0,05
FA (UI L <sup>-1</sup> )	223,3 – 362	126,5 – 193,2	P<0,05
Fósforo (mg dl <sup>-1</sup> )	5,2 – 6,1	4,5 – 4,9	P<0,001
Frutosamina	1,1 – 1,3	7 – 16,6	P<0,0001
PPT (g dl <sup>-1</sup> )	3,5 – 3,8	3,4 – 3,6	NS
Uréia (mg dl <sup>-1</sup> )	5 – 6,5	4,5 – 7,4	NS

Em 1990 um estudo que visava estabelecer parâmetros bioquímicos para os Psitacíformes de uma forma geral, encontrou os seguintes valores para *Ara sp.* (LUMEIJI, OVERDUIN, 1990).

Quadro 6 – Valores de Uréia, Creatinina, AU, Sódio, Potássio, cálcio, Glicose, AST, ALT, GGT, LDH, CK, PPT, Albumina e Globulina de *Ara sp.*

Parâmetro	n	Mediana	Media	Desvio	Faixa
Uréia (mmol/l)	16	2,2	2,2	0,6	1,3 – 3,3
Creatinina (µmol/l)	16	41,5	40,3	11,1	20 - 59
Ácido Úrico (µmol/l)	11	195	188	45	109 – 231
Sódio (mmol/l)	11	159	160	7,6	150 – 175
Potássio (mmol/l)	11	2,3	2,7	0,8	1,9 – 4,1

Cálcio (mmol/l)	15	2,4	2,4	0,2	2,2 – 2,8
Glicose (mmol/l)	16	15	15	1,7	12 – 17,9
AST	16	105	119	39	58 – 206
ALT (IU/l)	16	60	64	19,6	22 – 105
GGT (IU/l)	15	3	2,3	1,8	<1 – 5
LDH (IU/l)	16	120	115	37,8	66 – 166
CK (IU/l)	16	117	150	112	61 – 531
Ácidos Biliares (µmol/l)	16	50	47	11,8	25 – 71
Ptns totais	11	44	43	5,1	33 – 53
Albumina/ Globulina (g/l)	11	2	2,4	0,8	1,4 – 3,9

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local do Estudo

Os exemplares de *Ara ararauna* que foram utilizados neste experimento foram provenientes do criatório Passaredo (IBAMA n°02022.005244/02-26), localizado na Rua dos Fazendeiros, no bairro de Pedra de Guaratiba, zona oeste do Rio de Janeiro, e da Fundação RIOZOO localizada na Quinta do Boa Vista s/n, são Cristóvão, Rio de Janeiro.

#### 3.2. Amostra Estudada

Foram utilizados 67 animais, sendo 36 machos e 31 fêmeas. Todos os animais foram submetidos a uma avaliação clínica, e a amostra sanguínea coletada apenas nos animais clinicamente saudáveis. Desses 67 animais, 33 foram provenientes do Criatório (manejo 1) e 34 pertencentes ao acervo vivo da Fundação RIOZOO (manejo 2). Parcela das aves pertencentes a este último ( $n = 30$ ) foi anestesiada com isoflurano após a retirada da amostra sanguínea e tiveram uma nova amostra retirada quando estavam por 10 minutos anestesiadas, para que os resultados de antes e após anestesia fossem comparados. O protocolo anestésico consistiu indução com isoflurano a 5% e manutenção a 2%

#### 3.3. Coleta Sanguínea

As aves do experimento foram submetidas a um jejum de duas horas antes da coleta. A contenção utilizada foi apenas a física, onde um assistente experiente imobilizou a ave e estendeu seu pescoço, enquanto um Veterinário, após assepsia local, garroteou a entrada da veia jugular na cavidade torácica, deixando-a ingurgitada para a coleta. Com auxílio de uma agulha 25 x 6 acoplada a uma seringa de 5 ml, foram retirados, no mínimo 4,5 mL de sangue da veia jugular, sendo 2 mL transferida para um tubo contendo EDTA e o restante para um tubo sem anticoagulante.

### 3.4. Processamento

As amostras foram transportadas ao Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Estácio de Sá, numa câmara isotérmica. O soro foi separado por centrifugação e congelado até o momento da realização dos exames. Foi utilizado um analisador bioquímico semi-automático para a determinação dos seguintes bioquímico - séricos: colesterol; triglicerídeos; creatinina; uréia; ácido úrico; AST; CK; amilase; lipase; fosfatase alcalina; proteínas totais e frações. Os esfregaços de sangue foram corados segundo o método May Grunwald Giemsa e o hemograma completo foi realizado respeitando um prazo máximo de 12 horas após a amostragem.

#### 3.4.1. Hemoglobinometria (Hb)

Realizada em duplicata; pipetar cinco mililitros de reagente de Drabkin em cada um dos dois tubos e em seguida pipetar 20 microlitros de sangue total em EDTA, adicionando essa alíquota a cada tubo; homogeneizar por inversão; centrifugado em alta rotação (8g) por oito minutos e aguardar por um período mínimo de cinco minutos (a cor ficará estável por até quatro horas); transferir o sobrenadante para uma cubeta e ler em fotocolorímetro em 520 nm contra um fundo branco (reagente de Drabkin) utilizando as cubetas do aparelho; multiplicar a absorbância encontrada pelo fator de correção obtido através da padronização do kit. O fator de correção será obtido, com base no valor do padrão de hemoglobina fornecido pelo fabricante, obtendo assim a hemoglobinometria em g/dL.



Figura 2 – Frasco com líquido de Drabkin mostrando o acúmulo de núcleo ao fundo após centrifugação

#### 3.4.2. Microhematócrito (VG)

Em tubo capilar colocou-se sangue total em EDTA até aproximadamente 2/3 de sua capacidade; fechou-se a extremidade oposta na chama do bico de Bunsen; colocou-se na centrífuga de microhematócrito por cinco minutos (30g); leu-se os valores contra uma régua de microhematócrito, alinhando o menisco superior (plasma) com a linha superior da régua, deslizando até coincidir o limite inferior da coluna de glóbulos vermelhos com a linha inferior da régua, sendo o valor expresso em percentagem.

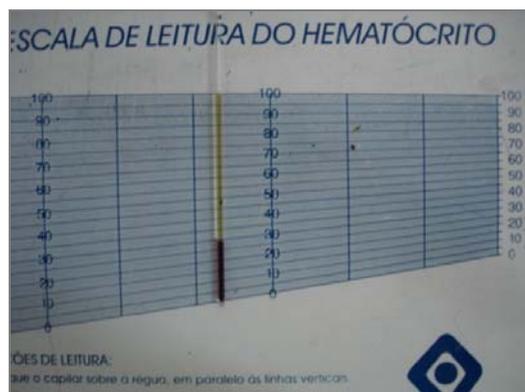


Figura 3 –Escala de leitura do microhematócrito – tamanho reduzido.

### 3.4.3. Hematimetria (Hm), Leucometria Global (LG) e Trombocitometria (T)

As contagens de eritrócitos, leucócitos e trombócitos foram realizadas em conjunto, em uma mesma diluição e processadas em câmara de Neubauer<sup>improved</sup> como descrito por (NASCIMENTO et al, 2003). Após aguardar de um a dois minutos para sedimentação das células sanguíneas, contou-se cada tipo celular isoladamente em aumento de 400X obedecendo à técnica do “L” invertido; o somatório obtido foi multiplicado pelo fator de correção, baseado na proporção da diluição e no volume (altura x área) da diluição que ocupa os compartimentos da câmara de Neubauer. Os eritrócitos foram contados utilizando-se um quinto do compartimento central, e os leucócitos, utilizando-se os quatro compartimentos laterais; os trombócitos, todo o compartimento central.

Abaixo uma figura demonstra o aspecto celular com a técnica acima descrita:

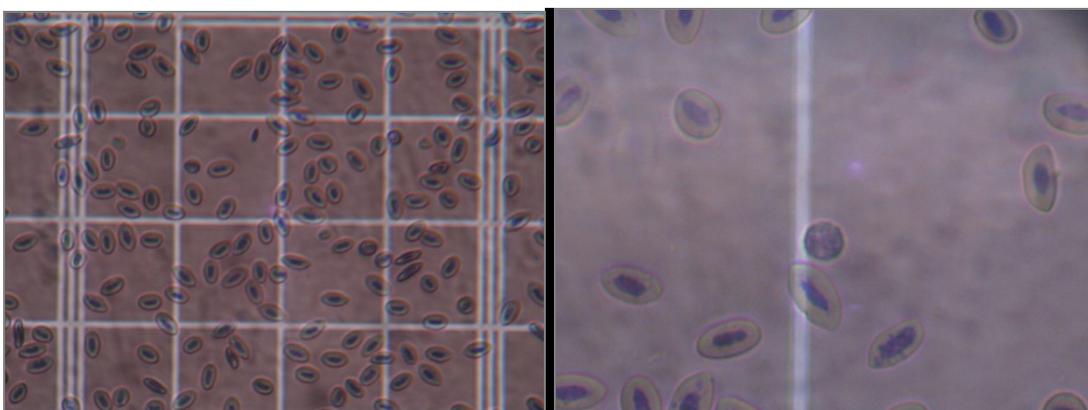


Figura 4 – Aparência celular apresentada na Câmara de Neubauer – aumento 400 vezes

### 3.4.4 Cálculo do volume globular médio (VGM)

Dividiu-se o valor encontrado para o hematócrito (VG) pelo valor encontrado para a hematimetria (Hem), multiplicando-se o resultado por 10, expressando-se o resultado em fentolitros (fl).

### 3.4.5 Cálculo da concentração de hemoglobina globular média (CHGM)

Dividiu-se o valor encontrado para a hemoglobinometria (Hb) pelo valor encontrado para VG, multiplicando-se o resultado por 100, expressando-se o resultado em percentagem (%).

### 3.4.6. Leucometria específica

Realizada através de microscopia em aumento de 1000X (imersão) dos esfregaços corados pelo May-Grünwald Giemsa (MGG). Os leucócitos foram observados seguindo a técnica de leitura de esfregaço sangüíneo, em que se utiliza o terço médio de cada extremidade lateral do esfregaço corado, contando-se 100 leucócitos em cada lateral, obtendo assim, a leucometria específica relativa, em percentagem, para posterior cálculo da leucometria específica absoluta expressa em milhares de leucócitos por microlitros de sangue ( $\times 10^3/\text{ul}$ ). Antes da contagem específica a morfologia de todos os grupos celulares foi avaliada.

### 3.4.7 Proteínas plasmáticas totais (PPT)

Enchidos os tubos capilares até aproximadamente 2/3 de sua capacidade, fechou-se a extremidade oposta na chama do bico de Bunsen; colocou-se na centrífuga de microhematócrito por cinco minutos (30g). Os capilares foram então quebrados acima da capa de leucócitos. Uma gota (38 ul) do plasma foi depositada no refratômetro, onde se procedeu a leitura da concentração da PPT, em g/dl.

### 3.4.8. Bioquímica sérica

Após o processamento hematológico, o plasma e o soro das amostras foram separados e congelados para posterior análise.

As dosagens bioquímicas foram realizadas com uso de kits Gold Analisa no aparelho de Bioquímica semi-automático BIOPLUS 2000, nas dependências do Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Estácio de Sá.

Houve uma grande variação no número de animais utilizados para cada dosagem bioquímica devido à escassez amostral de alguns exemplares, por consequência de lipemia e hemólise.

Foram dosados no estudo níveis de UR, CR, AU, PT, ALB, GLOB, COL, TRI, AMIL, LIP, AST, ALT, FA, GGT e CK.

A quantidade de animais utilizados em cada dosagem se encontra no quadro abaixo:

Tabela 1 – Número de animais utilizados para cada parâmetro bioquímico

Bioquímica	“n”	Bioquímica	“n”
PT	50	ALT	19
Alb	48	FA	44
Glob	48	GGT	16
Ur	59	Tri	14
Cr	59	Col	26
AU	50	Lip	27

AST	48	Amil	39
CK	26		

#### 4. RESULTADOS

Os resultados obtidos podem ser verificados nas tabelas que se seguem, que incluem valores como média, desvio, mínimo, máximo.

Tabela 2 – Valores mínimos, máximos, médios e desvio padrão de volume globular (VG), Hemoglobina (Hb), Hematimetria (Hem), Volume globular médio (VGM), concentração de hemoglobina globular média (CHGM) e trombocitometria (T) de *Ara arana*, levando em consideração os diferentes grupos de acordo com sexo, manejo e contenção e contendo valores do grupo como um todo, repretado como totais:

Descrição	Medidas de dispersão	VG (%)	Hem (mm <sup>3</sup> )	Hb (g/dl)	CHGM (%)	VGM (fL)	T (mm <sup>3</sup> )
Total	Média	45,14	2,97	13,11	25,74	154,66	24626,87
	Desvio	3,74	0,45	1,30	9,88	23,15	9401,54
	Mínimo	35,00	2,28	10,50	23,40	114,29	10000,00
	Máximo	52,00	4,20	16,20	36,00	214,90	58000,00
Machos	Média	45,03	2,94	13,10	23,11	155,80	22515,50
	Desvio	4,47	0,42	1,35	12,38	24,42	8806,39
	Mínimo	35	2,39	11,1	25,1	118,18	10000
	Máximo	52	4,2	15,9	34,05	205,02	47000
Fêmeas	Média	45,45	3,04	13,25	29,25	152,33	27225,81
	Desvio	2,85	0,48	1,28	2,81	22,2	10068,8
	Mínimo	39	2,28	10,5	23,4	114,29	10000

	Máximo	51	4,2	16,2	36	214,91	58000
Anest.	Média	44,03	2,72	12,28	28,14	165,68	23542,86
	Desvio	3,86	0,49	1,18	2,81	27,07	8735,8
	Mínimo	35	2	10,5	22,55	113,15	10000
	Máximo	54	4	15	34	235	47000
Manejo 1	Média	43,78	3,08	13,37	30,56	144,37	25812,5
	Desvio	3,73	0,5	1,38	2,29	17,7	10084,9
	Mínimo	35	2,4	10,5	23,86	114,3	11000
	Máximo	52	4,2	16,2	36	186,99	58000
Manejo 2	Média	46,37	2,87	12,82	27,65	164,06	23542,86
	Desvio	3,34	0,36	1,14	2,26	23,74	8735,8
	Mínimo	39	2,28	11,2	23,4	118,18	10000
	Máximo	52	3,7	15,9	32,04	214,91	47000

Tabela 3 – Valores de Leucometrias global e específica absoluta de *Ara arauna*, levando em considerando os diferentes grupos de acordo com sexo, manejo e contenção e contendo valores do grupo como um todo, representado como totais

Descrição	Medidas de dispersão	Leucometria Global	Eosinófilo (mm <sup>3</sup> )	Basófilo (mm <sup>3</sup> )	Segmentado (mm <sup>3</sup> )	Linfócitos (mm <sup>3</sup> )	Monócitos (mm <sup>3</sup> )
TOTAL	Média	11126,87	42,25	64,13	7910,42	2648,98	462,77

	Desvio	6821,84	93,19	80,21	5415	2041,98	739,45
	Mínimo	2500	0	0	1725	650	0
	Máximo	40000	490	280	24300	16800	5800
Machos	Média	10401,52	30,31	70,31	7146,64	1776,95	499,22
	Desvio	7551,37	75,91	86,25	5274,5	2749,72	981,28
	Mínimo	25000	0	0	1725	650	60
	Máximo	40000	325	280	24300	16800	5800
Fêmeas	Média	11556,45	52,26	57,38	8451,45	2547,3	448,06
	Desvio	6285,47	108,96	74,99	5635,63	992,2	412,03
	Mínimo	3000	0	0	1830	1035	0
	Máximo	27000	490	260	23220	4800	1750
Anest.	Média	9250	64,92	82,94	8664,48	2201,54	353,75
	Desvio	5147,02	119	92,03	5216,78	880,68	311,43
	Mínimo	2000	0	0	1725	650	0
	Máximo	23000	490	280	24300	4320	1750
Manejo 1	Média	11015,63	17,17	43,5	7083,39	3139,2	603,3
	Desvio	7997,71	41,46	59,7	5591,67	2750,72	1012,98

	Mínimo	3000	0	0	1830	945	60
	Máximo	40000	160	220	23220	16800	5800
Manejo 2	Média	11228,57	64,92	82,94	8664,48	2201,54	353,75
	Desvio	5656	119	92,03	5216,78	880,68	311,43
	Mínimo	2500	0	0	1725	650	0
	Máximo	27000	490	280	24300	4320	1750

Tabela 4– Valores mínimos, máximos, médios e desvio padrão de proteínas plasmáticas totais (PPT), proteínas totais séricas (PTS), albumina (ALB), globulinas (GLOB), creatinina (CR), uréia (UR), ácido úrico (AU) e creatina-kinase (CK) de *Ara arana*, levando em considerando os diferentes grupos de acordo com sexo, manejo e contenção e contendo valores do grupo como um todo, representado como totais

Descrição	Medidas de dispersão	PPT	PTS	ALB	GLOB	CR	UR	AU	CK
TOTAL	Média	5,97	3,61	1,02	2,65	0,33	4,68	4,43	440,19
	Desvio	1,26	0,92	0,24	0,90	0,11	1,94	1,65	442,95
	Mínimo	4,00	2,20	0,30	1,20	0,10	2,00	1,20	110,00
	Máximo	9,00	5,70	1,60	4,80	0,70	11,00	9,10	1993,00
Machos	Média	5,87	3,60	0,97	2,71	0,31	4,80	4,69	642,29
	Desvio	1,29	0,90	0,20	0,92	0,09	2,20	1,45	526,36
	Mínimo	4,00	2,40	0,60	1,30	0,10	2,00	1,20	120,00

	Máximo	7,80	5,70	1,50	4,80	0,50	11,00	7,50	1993,00
Fêmeas	Média	6,07	3,59	1,05	2,57	0,33	4,46	4,29	199,10
	Desvio	1,27	0,95	0,26	0,89	0,09	1,75	1,84	77,72
	Mínimo	4,20	2,20	0,30	1,20	0,10	2,00	1,90	110,00
	Máximo	9,00	5,30	1,60	4,10	0,60	8,00	9,10	370,00
Anest.	Média	6,50	-	-	-	-	-	-	-
	Desvio	0,70	-	-	-	-	-	-	--
	Mínimo	5,20	-	-	-	-	-	-	-
	Máximo	8	-	-	-	-	-	-	-
Manejo 1	Média	4,95	3,82	0,97	2,94	0,30	4,17	4,58	86,4
	Desvio	0,99	0,82	0,28	0,74	0,08	1,67	2,02	-
	Mínimo	4,00	2,50	0,30	1,2	0,1	2	1,2	-
	Máximo	9,00	5,30	1,50	4,10	0,50	8,00	9,10	-
Manejo 2	Média	6,84	3,47	1,06	2,45	0,35	5,16	4,33	440,19
	Desvio	0,66	0,97	0,19	0,95	0,13	2,08	1,37	442,95
	Mínimo	5,40	2,20	0,70	1,30	0,20	0,20	1,90	110,00
	Máximo	8,00	5,70	1,60	4,80	0,70	0,70	7,40	1993,00

Tabela 5 – Valores de AST, ALT, FA, GGT, TRI, COL, AMIL, e LIP de *Ara arauna*, levando em considerando os diferentes grupos de acordo com sexo, manejo e contenção e contendo valores do grupo como um todo representado como totais

Descrição	Medidas de dispersão	AST	ALT	FA	GGT	TRI	COL	AMIL	LIP
TOTAL	Média	162,7	15,66	69,66	3,06	105,14	157,96	296,69	22,52
	Desvio	77,52	4,19	25,73	2,77	33,56	37,04	135,56	6,7
	Mínimo	79	7,5	34	0	51	94	59	14
	Máximo	423	26	125	11	163	240	657	43
Machos	Média	154,72	16,05	67,26	3	108,66	154,38	295,28	21
	Desvio	65,4	5,07	28,57	1,73	43,74	30,02	146,06	6,06
	Mínimo	79	7,5	34	1	51	106	59	14
	Máximo	310	26	125	6	163	223	657	33
Fêmeas	Média	174,71	15,22	71,8	3,11	102,5	166,18	289,42	23,23
	Desvio	93,22	3,19	23,1	3,48	26,57	45,78	128,93	7,49
	Mínimo	86	13	41	0	62	94	105	15
	Máximo	423	23	120	11	145	240	583	43
Anest.	Média	-	-	-	-	--	-	-	-
	Desvio	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mínimo	-	-	-	-	-	-	-	-

	Máximo	-	-	-	-	-	-	-	-
Manejo 1	Média	113	15,66	67,44	3,06	105,14	151,64	167,27	16
	Desvio	13,63	4,19	27,19	2,77	33,56	41,68	65,47	-
	Mínimo	89	7,5	35	0	51	94	59	16
	Máximo	136	26	120	11	163	240	263	16
Manejo 2	Média	192,53	-	70,92	-	-	162,6	347,54	22,77
	Desvio	84,72	-	25,29	-	-	33,98	121,51	6,7
	Mínimo	79	-	34	-	-	118	146	14
	Máximo	423	-	125	-	-	223	657	43

Ao realizar a avaliação clínica dos pacientes, a única alteração encontrada foi a presença de papilomas cloacais (figura 7), de forma que estes animais não foram incluídos na amostragem. A pesquisa de hematozoários foi realizada nas duas lâminas lidas de cada animal e em nenhuma ave foi constatada presença de hemoparasitas.

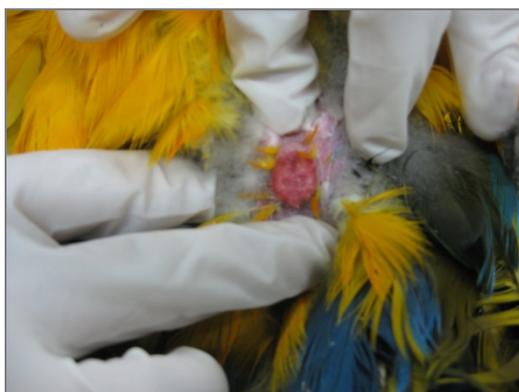


Figura 5 – *Ara ararauna* apresentando papilomas cloacais – tamanho reduzido

Os resultados obtidos foram submetidos a análises estatísticas com o objetivo de traçar as medidas de dispersão e de realizar uma comparação entre os seguintes grupos: machos/fêmeas; manejo1/manejo2; anestesiados/não anestesiados.

O teste T pareado foi utilizado para avaliar a significância das alterações encontradas nos indivíduos dos grupos anestesiado e não anestesiado, já que a unidade experimental foi a mesma. Esse teste revelou alteração significativa ( $P=0,05$ ) apenas na LG do grupo não anestesiado, que foi maior, o que também ocorreu com a PPT e a contagem de neutrófilos segmentados.

O teste ANOVA foi usado para avaliar possíveis discrepâncias significativas entre os grupos de machos e fêmeas e entre os diferentes manejos.

O único achado que apresentou diferença significativa ao comparar os sexos foi o maior número de trombócitos apresentados pelas fêmeas. Nem mesmo ao comparar fêmeas e machos do grupos dos anestesiados houve diferença significativa.

O manejo foi o ítem que causou mais diferenças, visto que os animais provenientes do RIOZOO tiveram maiores níveis de VG, Hem, VGM, Eo e Bas, UR, CR, AST, AMIL e CK, e, menores níveis de ALB.

## 5. DISCUSSÃO

Muitos clínicos de animais silvestres têm como hábito extrapolar a referência de um padrão bioquímico entre uma espécie e outra de mesmo gênero. Porém, há duas décadas já fora comprovada a existência de diferenças significativas até em espécies que compartilham mesmo gênero. (LUMEIJI, OVERDUIN, 1990). O estudo demonstrou que essas diferenças se estendem ao manejo em que essa espécie é submetida, as suas características sexuais e também ao tipo de contenção à qual são submetidas para a coleta de amostras de sangue. Há anos pesquisadores demonstram a necessidade de padronização de acordo com o sexo (LUMEIJI, OVERDUIN, 1990).

O fato do grupo anestesiado ter demonstrado diminuição no número de leucócitos circulantes nos faz pensar que ao ser capturado mecanicamente, a epinefrina liberada pelo estresse gerado aumentou a contagem de leucócitos. Daí o motivo pelo qual os animais anestesiados demonstraram menor contagem leucocitária, pois sua amostra foi coletada somente após 10 minutos de anestesia. Entretanto, sendo o deslocamento das células do pool marginal para o periférico a causa de tal leucocitose, o estudo deveria ter demonstrado diminuição significativa do número de heterófilos, fato este que não ocorreu. Um trabalho publicado com uso de *Pteropus hypomelanus* como unidade experimental, demonstrou que a anestesia com isoflurano causa leucopenia. (HEARD, HUFT, 2008). Dessa forma, um estudo envolvendo um número amostral mais significativo e outras espécies de aves deve ser conduzido, no sentido de sanar possíveis dúvidas sobre a real causa de tal leucopenia.

O fato de fêmeas e machos anestesiados não apresentarem nenhum tipo de alteração hematológica significativa indica que ambos os sexos reagem hematologicamente da mesma forma quando anestesiados.

Os trombócitos participam do processo de imunidade inata nas aves, já que possuem capacidade fagocitária, podendo participar da remoção de materiais estranhos da corrente sanguínea. No atual estudo as fêmeas apresentaram maior número de trombócitos do que os machos da mesma espécie, sugerindo que este grupo sexual possui menor propensão a desenvolver certos tipos de infecções do que os machos. Dessa forma, de uma maneira geral,

um levantamento avaliando o tempo médio de vida de *Ara ararauna* nos diferentes sexos poderia sugerir que o maior número de trombócitos nas fêmeas seria o responsável por sua maior sobrevivência, caso as fêmeas fossem os animais com sobrevivência maior significativamente.

Os animais provenientes da Fundação RIOZOO apresentaram maior VG, Hem e VGM, devido ao fato desses animais ficarem soltos em um grande viveiro que permite a prática de exercícios de voo. Assim, animais alojados em grandes viveiros ou oriundos de vida livre, devido ao maior estímulo da eritropoetina, possuem um número de células vermelhas mais elevado. Já o número elevado de eosinófilos e basófilos não pode ser desvendado, já que nem ao menos a função exata de cada um desses tipos celulares foi estabelecida.

Os níveis diferenciados de UR, CR e ALB podem ser explicados pela diferenciação na dieta oferecida, já que no Criatório os animais são alimentados basicamente com ração balanceada, enquanto os animais do RIOZOO são alimentados com um misto de ração, frutas e sementes. O fato dos animais na Fundação ficarem soltos e juntos em um grande viveiro, até mesmo dividindo espaço com outras espécies favorece a competição alimentar, o que pode gerar desequilíbrios nutricionais individuais relacionados ao metabolismo protéico.

Como os animais do criatório ficam aos casais em viveiros menores, o que facilita a captura, apresentaram menores números de AST e CK do que os animais do RIOZOO. Afinal, na Fundação os animais tiveram que ser capturados com a ajuda de longos puçás, vários funcionários e a um custo energético aos animais elevadíssimo, com grandes chances de fadiga muscular.

A falta de especificação sobre a metodologia utilizada, observada durante a revisão bibliográfica, dificultou a correta interpretação estatística de estudos anteriores que possuíam o mesmo objetivo deste trabalho.

## 6. CONCLUSÃO

O estudo permitiu estabelecer um padrão hematológico e bioquímico-sérico para a espécie *Ara ararauna*, no Estado do Rio de Janeiro, sob condições nutricionais adequadas e fora do período reprodutivo. Lembrando que, sempre que possível, os animais devem ser separados nas categorias que os diferenciam, para interpretações mais exatas de seus respectivos perfis.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AENGWANICH, Worapol et al. Blood cell characteristic, hematological and serum biochemistry values of Painted Stork (*Mycteria leucocephala*). **J. Sci. Technol. Sonklanakarín**, v.24, n.3, jul-sep, p. 473 - 479, 2002

ALTMAN, Robert B. et al. **Avian Medicine and Surgery**. Philadelphia: w. b. company saunders, 1997.

ARAÚJO, Eduardo Joosé de Almeida et al. Hematologic and biochemical parameters of rats subjected to hypoproteic and hipercaloric diet. **Arquivo de Ciências Veterinárias Zoológicas**, v.8, n.2, p. 139-146, 2005.

BAIN, Bárbara J. Ethnic and sex differences in the total and differential white cell count and patelet count. **Journal Clinical Pathology**, n.49, p.664-666, 1996.

BAIN, Barbara J.; ENGLAND, J.M. Normal haematological values: sex difference in neutrophil count. **British Medical Journal**.p.306-309, 1975.

BIRCHARD, Stephen. F.; SHERDING, Robert G. **Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2003.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. **Threatened Birds of the World**. Barcelona/ Cambridge: Lynx/Birdlife, 2000.

BONELLO, Fábio Luis; CIARLINI, Paulo César; AZEVEDO, Eustáquio Zacour. Eritrograma e proteína plasmática total (PPT) em araras-canindé (*Ara ararauna*) mantidas em cativeiro. **Ciências Agrárias da Saúde**, Andradina, v.2, n.2,p. 20-24, jul-dez 2002.

CAMPBELL, Terry W.; ELLIS, Christine K. **Avian and exotic animal hematology and cytology**. 3 ed. Iowa: Blackwell Publishing, p.287, 2007.

COKE, Rob L.; WEST, Gary D.; HOOVER, John P. Hematology and plasma biochemistry of captive Puna Ibis (*Plegadis ridgewayi*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n.1, pp 141-144, 2004.

CUBAS, Zalmir S.; SILVA, Jean C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca, 2007.

DAVIS, Andrew K.; MAERZ, John C. Sex related differences in hematological stress indices of breeding paedomorphic mole salamanders. **Journal of Herpetology**, v.42, n.1, p. 197-201, 2008.

DEIN, F. Joshua; WILSON, B. Alix; FISCHER, M. T. Avian leucocyte counting using the hemocytometer. **Journal Zoo Wild Medicine**, v.25, p.432-437, 1994.

DRESSEN, Priscila J.; WIMSATT, Jeffrey; BURKHARD, Mary Jo. The feffects of isoflurane anesthesia on hematologic and plasma biochemical values of American Kestrels (*Falco sparverius*). **Jounal of Avian Meidicine and Surgery**, v.13, n.3, p.173-179, 1999.

FRANSON, J. Christian.; MURRAY, Helen C.; BUNK, Christine Enzyme activities in plasma, kidney, liver and muscle of five avian species. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 21, n.1, pp. 33-39, 1985.

FELDMAN, Bernard F.; ZINKL, Joseph G.; JAIN, Nemi C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5 ed., p.2344, 2000.

FUDGE, Alan M. **Laboratory Medicine: Avian and Exotic Pets**. Philadelphia : W.B. Saunders, p.486, 2000.

HARR,K. Clinical Chemistry of Companion Avian Species: A Review. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 31, n.3, 2002.

HEARD, Darryl J.; HUFT, Vanessa J. The effects of short-term physical restraint and isoflurane anesthesia on hematology and plasma biochemistry in the Island Flying Fox (*Pteropus hypomelanus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.29, n.1, p.14-17, 1998.

JAIN, Nemi C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia : Lea & Febinger, 1993, 417p.

LOPEZ-OLVERA, Jorge Ramon; MONTANÉ, Jordi; MARCO, Ignasi; MARTINEZ-SILVESTRE, Albert; SOLER, Joaquim; LAVIN, Santiago. Effect of venipuncture site on hematologic and serum biochemical parameters in marginated tortoise (*Testudo marginata*). **Journal of Wildlife Diseases**, v.39, n.4, p. 830-836, 2003.

LUMEIJL, J. T.; OVERDUIN, L.M. Plasma chemistry references values in Psittaciformes. **Avian Pathology**, v.19, p. 235-244, 1990.

MARINI, R. P; JACKSON, R. L.; ESTEVES, M. I.; ANDRUTIS, K. A.; GOSLANT, C. M.; FOX, G. J. Effect of isoflurane on hematologic variables in ferrets. **American Journal of Veterinary Research**, V.55, n.10, p.1479-83, oct., 1994.

NASCIMENTO, Marcílio D.; SILVA, Ursula R. C. F.; XAVIER, M. S.; STELLING, Wagner; VILAR, Thiago D. Uma nova metodologia para contagem conjunta de elementos figurados sanguíneos de aves, répteis, anfíbios e peixes em hemocítômetro de Neubauer. **Rev Univ Rural, Ser. Ci. Vida. Seropédica**, RJ, EDUR, v.26, p.13-14, 2006.

PALOMEQUE, J.; PINTO, O.; VISCOR, G. Hematologic and blood chemistry values of the masai ostrich (*Sthuthio camel*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 27, n. 1, pp 34-40, 1991.

PETRAK, Margaret L. **Diseases of Cage and Aviary Birds**. Philadelphia: LEA & FERBIGER, 1982.

PHILIPS, K. M. Psittacine Blood Collection and Hematology: Basics for the Veterinary Practitioner [1999]. Disponível em:<  
<http://www.vet.uga.edu/vpp/ivcvm/1999/phillips/index.php>> Acesso em 10 maio 2007

RITCHIE, Branson W.; HARRISON, Greg J.; HARRISON, Linda R. **Avian Medicine: principles and applications**. WINGERS PUBLISHING, INC.: Florida, 1994.

RUPLEY, Agnes E. **Manual de Clínica Aviária**. São Paulo: ROCA, 1999.

STANLEY, M. Gairn; NATHAN, J. Smith; DIANE, C. Clark. The magnitude and the implications of apparent race differences in hemoglobin values. **The American Journal of Clinical Nutrition**, n.28, p. 563-568, 1975.

THRALL, Mary Anna; BAKER, Dale C.; DENICOLA, Dennis; FETTMAN, Martin J.; LASSEN, E. Duane; REBAR, Alan; WEISER, Glade **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004, 518 p.

VALLE, Stella de Faria; ALLGAYER, Mariângela da Costa; PEREIRA, Rosecler Alves; BARCELLOS, Leonardo José Gil; HLAVAC, Nicole Regina Capacchi; FRANÇA, Raqueli Teresinha; LOCATELLI, Marcelo Lauxen. Parâmetros de bioquímica sérica de machos, fêmeas e filhotes de arara Canindé (*Ara ararauna*) saudáveis mantidas em cativeiro comercial. **Ciência Rural**, Santa Maria, vol. 38, n. 3, may-june, 2008. (VALLE et al, 2008)

VALLER, Stella de Faria.; ALLGAVERN, Mariângela da Costa; PEREIRA, Rosecler Alves; BARCELLOS, Leonardo José Gil; HLAVAC, Nicole Regina Capacchi Serum biochemical parameters of healthy male, female and Young blue-and-yellow macaws (*Ara ararauna*) bred in captivity. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p. 711-716, mai-jun, 2008. (VALLER et al., 2008)

## ANEXOS

ANEXO A – Tabela com a determinação do sexo, valores de hemoglobina (Hb), hematimetria (Hem), volume globular (VG), concentração de hemoglobina globular média (CHGM), volume globular médio (VGM) e leucometria global (LG).

Identificação	Sexo	Hb 1	VG 1	Hem 1	CHGM 1	VGM 1	LG 1
LHA17304	F	13,0	46	3,24	28,26087	141,9753	7750
EJPN24	NI	13,8	46	3,22	30,00000	142,8571	5250
LHA02403	M	12,8	46	2,46	27,82609	186,9919	9000
LHA02103	F	10,5	44	2,72	23,86364	161,7647	5000
LHA01703	NI	12,3	40	3,24	30,75000	123,4568	8000
EJPN144	F	13,5	45	3,00	30,00000	150,0000	10000
LHA27605	F	15	49	3,54	30,61224	138,4181	3000
LHA02203	M	13,7	46	2,94	29,78261	156,4626	3000
EJPN23	F	13,4	43	2,44	31,16279	176,2295	20000
EJPN28	M	13	45	3,31	28,88889	135,9517	6000
EJPN26	F	12,5	43	2,91	29,06977	147,7663	22000
LHA02703	M	11,1	36	2,69	30,83333	133,829	40000
LHA01603	F	13,5	43	2,92	31,39535	147,2603	5000
EJPN23	F	13,4	47	3,5	28,51064	134,2857	21000
LHA01503	M	11,1	35	2,44	31,71429	143,4426	11000
LHA17404	F	16,2	45	3,65	36	123,2877	20000
LHA12203	F	14,6	47	3,7	31,06383	127,027	10000
LHA17104	F	14,6	48	4,2	30,41667	114,2857	8000
LHA01303	M	12,6	47	3,5	26,80851	134,2857	7000
LHA16404	M	13,2	40	3	33	133,3333	5000
LHA01203	M	15,7	52	4,2	30,19231	123,8095	10000
LHA02503	M	14,6	43	2,7	33,95349	159,2593	11000
LHA2003	F	16	48	3,8	33,33333	126,3158	10000
LHA0303	M	13,4	45	2,9	29,77778	155,1724	8000
LHA1103	M	11,9	39	3,3	30,51282	118,1818	8000
LHA2703	M	11,7	38	2,4	30,78947	158,3333	4000
LHA1003	F	13,3	43	2,9	30,93023	148,2759	7000

EJPN22	F	12,5	42	2,4	29,7619	175	7500
LHA1403	F	14,9	45	3,4	33,11111	132,3529	14000
LHA2403	M	14,3	42	2,9	34,04762	144,8276	5000
EJPN	F	13,4	42	2,6	31,90476	161,5385	27000
40000	NI	12,2	41	2,5	29,7561	164	15000
RDJZOO039	F	13,7	49	2,28	27,95918	214,9123	5000
RDJZOO034	M	13,8	52	2,7	26,53846	192,5926	6000
RDJZOO212	F	12,3	39	3,2	31,53846	121,875	8000
RDJZOO069	M	12,3	43	3	28,60465	143,3333	12000
RDJZOO seila	M	15,7	49	2,39	32,04082	205,0209	2500
RDJZOO100	F	13,4	44	2,88	30,45455	152,7778	7500
RDJZOO013	NI	12,6	41	2,8	30,73171	146,4286	15000
RDJZOO008	F	12,3	45	2,48	27,33333	181,4516	12000
RDJZOO032	M	12,5	49	2,74	25,5102	178,8321	18000
RDJZOO056	F	12,4	45	2,79	27,55556	161,2903	8500
RDJZOO024	F	12	43	2,95	27,90698	145,7627	14000
RDJZOO045	M	11,6	43	2,7	26,97674	159,2593	10000
RDJZOO061	F	13,8	51	3,7	27,05882	137,8378	10000
RDJZOO029	F	12,8	46	2,9	27,82609	158,6207	6500
RDJZOO094	F	12,2	45	3,42	27,11111	131,5789	13000
RDJZOO054	F	11,8	42	2,45	28,09524	171,4286	6500
RDJZOO067	F	11,8	50	2,67	23,6	187,2659	25000
RDJZOO70	F	11,7	50	2,9	23,4	172,4138	9000
RDJZOOGM	M	11,7	45	2,8	26	160,7143	8000
RDJZOO022	Indef.	11,2	47	2,5	23,82979	188	14000
RDJZOO010	F	NR	48	3	0	160	7000
RDJZOO012	M	NR	39	3,3	0	118,1818	8000
RDJZOO1005	M	NR	46	3,6	0	127,7778	6000
RDJZOO1065	M	NR	47	2,5	0	188	14000
RDJZOO089	M	NR	44	2,8	0	157,1429	4000
RDJZOO090	M	NR	49	3,6	0	136,1111	18000
RDJZOO006	M	NR	47	2,5	0	188	11000

RDJZOO049	M	NR	48	2,5	0	192	27000
RDJZOO031	M	15,9	52	2,8	30,57692	185,7143	12000
CGM049	F	13,8	48	3,2	28,75	150	15000
LH4406	F	13,1	44	2,6	29,77273	169,2308	14000
RDJZOO084	M	13,5	49	2,9	27,55102	168,9655	6500
RDJZOO048	M	12,3	49	3	25,10204	163,3333	21000
RDJZOO074	M	13,3	48	3,3	27,70833	145,4545	6000
RDJZOO47	M	12,7	47	2,6	27,02128	180,7692	13000
	"N"	59	67	67	67	67	67
	MÉDIA	13,11695	45,13433	2,971194	25,74007	154,6575	11126,87
	DESVIO	1,299092	3,741234	0,445123	9,877124	23,14716	6821,642
	CV	0,099039	0,082891	0,149813	0,383726	0,149667	0,613078
	cv	7,681146	8,185353	8,185353	8,185353	8,185353	8,185353
	n classes	5,271488	5,361006	5,361006	5,361006	5,361006	5,361006
	MINIMO	10,5	35	2,28	0	114,2857	2500
	MAXIMO	16,2	52	4,2	36	214,9123	40000
	IC	14,20815	45,47137	3,774707	36	193,5943	39533,67
	Variância	1,687639	13,99683	0,198135	97,55758	535,791	46534798

ANEXO B – Tabela com os valores relativos de eosinófilos (Eo), basófilos (Baso), segmentados (Seg), linfócitos (Lin) e monócitos (M), e com os valores de trombocitometria (T) e proteínas totais plasmáticas (PPT) e séricas (PTS).

Identif.	Eo r	Baso r	Seg r	Lin r	M r	Tl	Ptns Refl	Ptns Bio l
LHA17304	77,5	38,75	4650	2131,25	852,5	17000	4,8	2,5
EJPN24	0	210	3517,5	1312,5	210	17000	4,4	
LHA02403	0	0	5310	3330	360	11000	5,4	5,2
LHA02103	0	50	3075	1700	175	25000	5,2	2,5
LHA01703	0	40	5440	2080	440	33000	5,4	4,1
EJPN144	0	0	7150	2500	350	38000	4,8	3,5
LHA27605	0	0	1830	1035	135	17000	5,6	4,9
LHA02203	0	15	1875	945	165	20000	4,5	3,6
EJPN23	100	100	13700	4800	1300	33000	5,4	4,5
EJPN28	90	0	4020	1830	60	12000	5	3,3
EJPN26	0	220	18040	3520	220	40000	4,4	3,1
LHA02703	0	0	17400	16800	5800	29000	4,8	4,1
LHA01603	0	25	2650	2200	125	29000	4,8	
EJPN23	105	0	17325	2310	1260	31000	4,4	3,6
LHA01503	0	0	6710	3905	385	30000	4	3,4
LHA17404	0	100	14300	4800	800	33000		
LHA12203	0	50	6450	3250	250	28000	4,2	
LHA17104	0	40	4800	2720	440	30000	4,8	4,7
LHA01303	0	70	2065	4235	630	43000	4	3,5
LHA16404	0	0	2600	2175	225	18000	4	3,2
LHA01203	0	150	6150	3150	550	16000	4	3,1
LHA02503	0	0	7425	3080	495	16000	4,4	4,5
LHA2003	0	50	6250	3050	650	21000	5	5,3
LHA0303	160	40	3840	3840	120	24000	4,8	
LHA1103	0	0	5560	2160	280	21000	4	
LHA2703	0	0	2360	1280	360	15000	4,6	
LHA1003	0	0	3570	3080	350	58000	5	
EJPN22	0	75	5887,5	1387,5	150	16000	5	3,8

LHA1403	0	0	9590	4130	280	29000	6,4	
LHA2403	0	75	2825	1625	475	25000	6,4	
EJPN	0	0	23220	2970	810	29000	9	
RDJZOO039	100	0	3450	1300	150	20000	6	2,7
RDJZOO034	0	0	4080	1680	240	20000	5,4	
RDJZOO212	0	160	6280	1320	240	12000	5,6	
RDJZOO069	60	60	9120	2640	120	10000	6,2	
RDJZOO seila	25	0	1725	650	100	20000	6	3,6
RDJZOO100	75	0	4987,5	2100	337,5	16000	6	3,1
RDJZOO013	150	0	13200	1275	375	17000	5,9	3,1
RDJZOO008	360	60	9060	2520	0	15000	5,8	
RDJZOO032	0	180	12960	4320	540	21000	7,2	4,6
RDJZOO056	42,5	0	5950	2167,5	340	32000	8	
RDJZOO024	490	0	11130	1400	980	21000	7	2,2
RDJZOO045	250	0	6750	2750	250	47000	7,8	4,2
RDJZOO061	0	50	8550	1150	250	10000	7	2,8
RDJZOO029	0	0	3347,5	2957,5	195	33000	7,2	4,8
RDJZOO094	130	260	9295	2860	455	41000	7	3
RDJZOO054	0	0	4062,5	2112,5	325	24000	7	3,6
RDJZOO067	0	0	21375	1875	1750	25000	7,4	3,9
RDJZOO070	0	0	4770	4050	180	34000	7,8	3,2
RDJZOOGM	0	0	5160	2200	640	27000	7	2,9
RDJZOO022	0	140	10290	3080	490	24000	6	4,6
RDJZOO010	70	140	3815	2800	175	26000	7,6	5,2
RDJZOO012	40	120	5600	2080	160	25000	6,8	2,7
RDJZOO1005	0	150	4020	1440	390	21000	7,4	4,7
RDJZOO1065	0	280	11900	1540	280	10000	7,6	5,2
RDJZOO089	20	60	2920	800	200	28000	6,8	2,7
RDJZOO090	0	180	13770	3510	540	27000	6,8	5,7
RDJZOO006	0	110	7865	2750	275	23000	7	3,2
RDJZOO049	0	270	24300	1890	540	21000	6,8	2,8
RDJZOO031	0	60	9420	2160	360	15000	7,4	2,7

CGM049	0	150	12375	2250	225	23000	7,2	3,7
LH4406	70	210	11060	2520	140	38000	6,8	2,4
RDJZOO084						23000	7	2,4
RDJZOO048	0	0	17220	3570	210	27000	6,6	2,5
RDJZOO074	0	180	4320	1380	120	34000	7,2	3,1
RDJZOO47	325	0	10465	1755	455	14000	7	2,8
N	65	65	65	65	65	67	65	50
MÉDIA	42,15385	64,13462	7910,423	2648,981	472,7692	24626,87	5,966154	3,61
DESVIO	93,1993	80,21849	5415,008	2041,986	739,4515	9401,541	1,255398	0,920348
CV	2,210932	1,250783	0,684541	0,770857	1,564085	0,38176	0,21042	0,254944
CV	8,062258	8,062258	8,062258	8,062258	8,062258	8,185353	8,062258	7,071068
N CLASSES	5,339412	5,339412	5,339412	5,339412	5,339412	5,361006	5,339412	5,159148
MPINIMO	0	0	1725	650	0	10000	4	2,2
MÁXIMO	490	280	24300	16800	5800	58000	9	5,7
IC	490	280	23976,93	16678,26	5800	56134,68	8,250854	5,273573
VARIÂNCIA	8686,109	6435,006	29322312	4169707	546788,5	88388964	1,576024	0,847041

ANEXO C – Tabela com a identificação dos animais e valores de Creatinina, Uréia, Ácido Úrico, Albumina, Globulina, AST, ALT, FA, GGT, Triglicerídeos, Colesterol, Lipase, Amilase e CK.

Identificação	Creat	Uréia	AU	Alb.	Glob.	AST	ALT	FA	GGT	Trigl.	Colest	Lip.	Amil.	CK
LHA17304	0,3	2	7	0,8	1,7	116	16	69	2	121	142	NR	105	65
EJPN24	0,5	4	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	325
LHA02403	0,2	4	3,4	1,5	3,7	126	7,5	52	NR	NR	NR	NR	NR	82
LHA02103	0,3	4	2,1	1,3	1,2	123	16	49	0	91	NR	NR	171	100
LHA01703	0,3	3	4,2	0,9	3,2	126	20	60	2	NR	NR	NR	NR	NR
EJPN144	0,3	8	9,1	0,9	2,6	99	13	NR	1	62	NR	NR	NR	75
LHA27605	0,3	2	3,5	1,3	3,6	NR	15	70	6	NR	NR	NR	NR	NR
LHA02203	0,3	8	7,5	0,9	2,7	93	13	60	1	163	175	NR	204	NR
EJPN23	0,3	3	6,2	1,4	3,1	123	13	44	2	95	180	NR	138	50
EJPN28	0,3	5	NR	0,8	2,5	120	16	NR	NR	140	NR	NR	NR	75
EJPN26	0,4	3	3,1	0,9	2,2	116	13	74	11	97	94	NR	151	65
LHA02703	0,4	2	1,2	0,6	3,5	110	16	116	NR	NR	NR	NR	NR	65
LHA01603	0,3	4	NR	NR	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
EJPN23	0,3	6	3,1	0,3	3,3	106	13	NR	1	83	119	16	263	83
LHA01503	0,4	3	2,6	1	2,4	NR	13	44	6	85	166	NR	184	NR
LHA12203	0,3	3	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
LHA17104	0,4	2	2,8	1	3,7	93	23	44	1	145	240	NR	230	NR
LHA01303	0,1	3	4,3	NR	3,5	113	26	116	2	77	106	NR	59	13
LHA16404	0,3	4	5,2	NR	3,2	123	20	35	4	136	138	NR	243	58
LHA01203	0,2	3	4,4	0,8	2,3	99	16	NR	2	51	NR	NR	92	65
LHA02503	0,3	5	6	1	3,5	123	13	55	4	NR	NR	NR	NR	NR
LHA2003	0,3	4	7	1,2	4,1	136	15	120	NR	NR	NR	NR	NR	NR
LHA0303	0,2	7	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
LHA1103	0,4	4	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

LHA2703	0,4	4	N R	N R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
LHA1003	NR	NR	N R	N R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	75
EJPN22	0,3	4	4,9	1	2,8	89	NR	71	4	126	179	NR	NR	100
LHA1403	0,1	6	4	0,8	-0,8	NR	NR	NR	NR	NR	129	NR	NR	NR
LHA2403	NR	NR	N R	N R	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
EJPN	0,3	6	N R	N R	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
40000	0,3	5	N R	N R	0	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
RDJZOO0 39	0,2	6	2,6	1,1	1,6	170	NR	65	NR	NR	NR	NR	374	NR
RDJZOO0 34	NR	NR	N R	N R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	16	NR	NR
RDJZOO2 12	0,3	NR	N R	N R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	25	436	NR
RDJZOO0 69	NR	NR	N R	N R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
RDJZOO	0,3	5	2,6	0,8	2,8	233	NR	56	NR	NR	NR	NR	320	453
RDJZOO1 00	0,3	7	N R	N R	3,1	213	NR	80	NR	NR	143	21	289	270
RDJZOO0 13	0,7	7	3,2	1,3	1,8	140	NR	NR	NR	NR	118	30	483	166
RDJZOO0 08	NR	NR	N R	N R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
RDJZOO0 32	0,2	8	5,4	0,9	3,7	153	NR	NR	NR	NR	NR	NR	436	213
RDJZOO0 56	NR	NR	1,9	N R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
RDJZOO0 24	0,5	4	4,4	0,9	1,3	260	NR	69	NR	NR	NR	24	347	NR
RDJZOO0 45	0,2	7	4,3	1,1	3,1	133	NR	125	NR	NR	142	14	212	140
RDJZOO0 61	0,3	3	2,6	1,1	1,7	150	NR	51	NR	NR	NR	20	452	176
RDJZOO0 29	0,3	4	3,8	1	3,8	126	NR	41	NR	NR	NR	29	305	143
RDJZOO0 94	0,4	6	2,7	1,1	1,9	190	NR	87	NR	NR	NR	29	386	206

RDJZOO054	0,6	4	3,5	1,1	2,5	190	NR	95	NR	NR	NR	15	371	250
RDJZOO067	0,4	5	4,2	0,9	3	423	NR	108	NR	NR	NR	43	146	160
RDJZOO70	0,4	7	3,6	1,2	2	86	NR	114	NR	NR	222	24	189	146
RDJZOOM	0,4	4	3,2	1	1,9	310	NR	96	NR	NR	NR	21	251	1993
RDJZOO022	0,6	4	2,2	1,3	3,3	133	NR	82	NR	NR	154	24	274	296
RDJZOO010	0,4	7	5,7	1,6	3,6	380	NR	68	NR	NR	NR	21	200	370
RDJZOO012	0,3	5	5,2	1,4	1,3	153	NR	34	NR	NR	128	25	193	376
RDJZOO1005	0,2	7	6,1	1	3,7	230	NR	53	NR	NR	120	15	332	523
RZOO1065	0,3	7	5,6	1,1	4,1	193	NR	70	NR	NR	159	14	313	553
RDJZOO089	0,4	5	4,1	0,7	2	120	NR	121	NR	NR	NR	18	197	500
RDJZOO090	0,3	11	7,4	0,9	4,8	110	NR	88	NR	NR	142	20	425	1403
RDJZOO006	0,4	7	4,8	1	2,2	79	NR	63	NR	NR	172	NR	332	509
RDJZOO049	0,4	6	5,8	1,1	1,7	113	NR	60	NR	NR	NR	28	479	1037
RDJZOO031	0,2	3	5,5	0,9	1,8	280	NR	44	NR	NR	223	NR	386	869
CGM049	0,2	3	6,5	1,3	2,4	280	NR	60	NR	NR	212	16	363	110
LH4406	0,3	3	4,4	1	1,4	200	NR	57	NR	NR	168	19	583	160
RDJZOO084	NR	2	5	1	1,4	303	NR	45	NR	NR	NR	NR	NR	303
RDJZOO048	0,4	2	5	0,7	1,8	126	NR	54	NR	NR	NR	22	657	120
RDJZOO074	0,3	3	5,2	1,1	2	146	NR	63	NR	NR	173	26	NR	NR
RDJZOO47	0,4	3	3,4	1,1	1,7	153	NR	37	NR	NR	163	33	NR	NR
N	59	59	50	48	67	48	19	44	16	14	26	27	39	26
MÉDIA	0,33	4,68	4,43	1,02	1,96	162,70	15,65	69,65	3,06	105,14	157,96	22,51	296,69	440,19

DESVIO	0,1 1	1,94	1,6 6	0,2 3	1,41	77,52	4,19	25,7 3	2,7 7	33,56	37,04	6,70	135,54	442,95
Cv	0,3 3	0,41 6	0,3 7	0,2 3	0,72	0,47	0,26	0,36	0,9 0	0,31	0,23	0,29	0,45	1,00
CV	7,6 8	7,68	7,0 7	6,9 3	8,19	6,93	4,36	6,63	4	3,74	5,09	5,19	6,24	5,09
N CLASSES	5,2 7	5,27	5,1 6	5,1 3	5,36	5,13	4,59	5,08	4,5	4,43	4,76	4,78	4,99	4,76
MÍNIMO	0,1	2	1,2	0,3	-0,8	79	7,5	34	0	51	94	14	59	110
MÁXIMO	0,7	11	9,1	1,6	4,8	423	26	125	11	163	240	43	657	1993
IC	0,6 8	10,6 2	8,8 7	1,5 4	4,95	407,6 0	24,3 7	118, 30	11	151,4 9	220,2 4	40,0 7	645,19	1969,8 82
VARIÂNCIA	0,0 1	3,77	2,7 3	0,0 6	2,00	6010, 08	17,5 6	662, 28	7,6 6	1126, 13	1372, 04	44,9 5	18373, 01	19620 4,7