

FILIPA GOMES PEDRO LEITÃO DE AGUIAR

**O HEMOGRAMA NO CÃO E
CONTRIBUIÇÃO PARA A SUA CARACTERIZAÇÃO
NO CÃO DA SERRA DA ESTRELA, VARIEDADE DE
PÊLO COMPRIDO**

Orientador - Dr. Luís Cruz

Co-Orientador – Dr. Joaquim Henriques

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2010

FILIPA GOMES PEDRO LEITÃO DE AGUIAR

**O HEMOGRAMA NO CÃO E
CONTRIBUIÇÃO PARA A SUA CARACTERIZAÇÃO
NO CÃO DA SERRA DA ESTRELA, VARIEDADE DE
PÊLO COMPRIDO**

Dissertação apresentada para a obtenção do
Grau de Mestre em Medicina Veterinária no
Curso de Mestrado Integrado em Medicina
Veterinária conferido pela Universidade
Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Orientador - Dr. Luís Cruz

Co-Orientador – Dr. Joaquim Henriques

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2010

Agradecimentos

Ao meu co-orientador Dr. Joaquim Henriques pela sabedoria, paciência, imensa disponibilidade e por acreditar em mim, o que me deu muita força para concluir mais esta etapa da minha vida académica.

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, especialmente à Professora Doutora Laurentina Pedroso, por ter concedido os meios físicos e financeiros para a realização da parte prática deste projecto.

À Clínica Veterinária das Laranjeiras, por me ter proporcionado estágio, especialmente ao Dr. Luís Cruz por ter aceite ser meu orientador, pelo seu encorajamento, conversas e críticas construtivas durante e após o período de estágio.

A toda a equipa da Clínica Veterinária das Laranjeiras o meu muito obrigado pelo exemplo de profissionalismo e trabalho.

A toda a equipa do CDVET o meu muito obrigado pelo acolhimento durante estes anos. À Dr.^a Vera Pereira pela boa vontade e paciência para ajudar nas dúvidas que surgiram durante este trabalho, por me ter ensinado e feito despertar em mim um interesse especial na área da patologia clínica, especialmente na hematologia.

A todos os Professores da FMV-ULHT por tudo o que me ensinaram, especialmente ao Mestre Manuel Pequito pela sua ajuda na fase final da elaboração deste trabalho.

À Joana Pereira pela prontidão e disponibilidade em ajudar em tudo o que necessitei no laboratório da FMV-ULHT.

À Joana Sismeiro por me ter acompanhado nas recolhas de sangue, pelo apoio em todos os momentos durante o curso, realização do estágio e elaboração da tese.

À Filipa Moura e à Inês Leitão por se terem mostrado tão prontamente disponíveis para me acompanhar nas recolhas de sangue.

Aos meus amigos e colegas estagiários, pela aprendizagem mútua, grande entre-ajuda e amizade que se criaram nestes meses.

A todos os proprietários e donos de cães que se mostraram disponíveis para a colheita de sangue dos seus cães.

À minha família e amigos, especialmente aos meus pais e ao Filipe, por todo o amor e dedicação, por me terem apoiado incondicionalmente neste percurso académico, em que persegui um sonho.

Resumo

O hemograma é dos exames mais frequentemente solicitados na prática clínica. Está indicado sempre que se suspeite de doença, para ajudar no diagnóstico, monitorizar a sua evolução e resposta à terapêutica.

Os valores hematológicos devem ser, idealmente, comparados com intervalos de referência específicos para determinada população, no entanto, estes estão caracterizados para poucas raças de cães. Os objectivos da presente dissertação, para além de rever a bibliografia relativa ao hemograma no cão saudável, foram contribuir para a caracterização do hemograma no Cão da Serra da Estrela de Pêlo Comprido, propondo um intervalo de valores de referência específico para esta raça.

Os valores hematológicos foram determinados, numa amostra de 37 Cães Serra da Estrela adultos, inteiros e clinicamente saudáveis, utilizando o analisador automático «IDEXX Lasercyte®» e avaliação dos esfregaços sanguíneos. Para cada parâmetro foi determinada a normalidade, média, desvio padrão e intervalo de referência utilizando o percentil 2,5 e 97,5%.

Propôs-se um conjunto de intervalos de referência hematológicos e reportou-se que, para a amostra estudada, o hematócrito e volume corpuscular médio tendem a estar elevados, enquanto que a concentração de hemoglobina corpuscular média e plaquetas tendem a estar diminuídas.

Os resultados sugerem a eventual existência de particularidades do hemograma na raça estudada, pelo que maior investigação deve ser efectuada.

Palavras-chave: Hemograma, Raça, Cão Serra da Estrela, Intervalo de referência

Abstract

Complete blood cell count is one of the most requested exams in routine practice. It is applied to assess animal health, help with the diagnosis, evaluate the progress of certain diseases and response to therapy.

Typically, the hematological values of individuals or groups of animals are compared with reference ranges developed for a population. Although few dog breeds are studied, some particularities in hematological values are reported. The goals of this academic dissertation are: literature review on the canine major aspects of complete blood cell count in healthy dogs and determine hematological reference values in the breed.

Using the automatic analyzer "IDEXX Hematology ®" followed by microscope evaluation, hematologic values were determined in a sample of 37 clinically healthy, non neutered Serra da Estrela Dogs. Standard Deviation, average, normality and percentile 2.5 and 97.5% were determined for each parameter.

The author proposes hematological reference values and determined that hematocrit and mean corpuscular volume tend to be elevated whereas mean corpuscular hemoglobin concentration and platelets tend to be decreased.

The results may indicate the existence of particularities in the complete blood count of the studied breed meaning that further research should be done.

Keywords: Complete Blood cell Count, Breed, Serra da Estrela Dog, Reference range

Abreviaturas e símbolos

°C – Graus Célsius

CBC - Complete Blood Count

CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

dl - Decilitro

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

FAO - Food and Agriculture Organization

fL – Fentolitro

G – Gauge

g/dL – grama por decilitro

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média

Hg – Hemoglobina

Htc – Hematócrito

Kg - Quilograma

LOP - Livro de Origens Português

nº - Número

NNS – Neutrófilos Não Segmentados

NS – Neutrófilos Segmentados

µL - microlitro

ml – mililitros

% - Percentagem

PCV – Hematócrito «Packet Cell Volume»

pg - Picograma

RNA - Ácido Ribonucleico

SMF - Sistema Mononuclear Fagocitário

TRC – Tempo de Repleção Capilar

VCM- Volume Corpuscular Médio

VPM - Volume Plaquetário Médio

X – Vezes

K/µl – 10³ Células por Microlitro

Índice Geral

1.	Introdução	10
1.1.	Aspectos Gerais sobre Hemograma no Cão Saudável	11
1.1.1.	Componentes do Hemograma	13
1.1.2.	Exame do esfregaço sanguíneo	31
1.2.	O Cão Serra da Estrela	42
1.2.1.	Estudos realizados no Cão Serra da Estrela.....	45
1.3.	Justificação e Objectivo	47
2.	Materiais e Métodos	48
2.1.	População	48
2.2.	Colheita de Sangue	48
2.3.	Determinações Hematológicas	49
2.4.	Exame do esfregaço sanguíneo	49
2.5.	Análise estatística.....	51
3.	Resultados	52
4.	Discussão	54
5.	Conclusão	58
	Bibliografia	59
	APÊNDICES	I
	APÊNDICE I – REGISTO INDIVIDUAL.....	II
	APÊNDICE II – TABELA DE RESULTADOS	III
	ANEXO I - ESTALÃO DO CÃO SERRA DA ESTRELA	VI

Índice de Quadros

Quadro 1 - Características hematológicas em diferentes raças de cães	29
Quadro 2 - Resultados obtidos para Cão Serra da Estrela (n=33 no eritrograma e n=34 no leucograma).....	52

Índice de Figuras

Figura 1 – Maturação dos eritrócitos caninos (Adaptado de Harvey, 2001).....	18
Figura 2 – Neutrófilo coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 400x</i> (Fotografia original).....	21
Figura 3 - Linfócito canino coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 400x</i> (Fotografia original).....	23
Figura 4 - Monócito canino coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 1000x</i> (Fotografia original).....	24
Figura 5 - Ilustração de um Eosinófilo canino (Harvey, 2001).....	25
Figura 6 - Ilustração de um Basófilo canino (Harvey, 2001)	26
Figura 7 – Acantócitos num esfregaço sanguíneo de cão com patologia hepática coloração <i>Wright-Giemsa</i> (Cowel et.al., 1999)	32
Figura 8 – Monócito e um Eritrócito nucleado - metarrubricito num esfregaço sanguíneo de cão coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 400x</i> (Foto Original)	32
Figura 9- Esquema do Padrão de Observação do Esfregaço Sanguíneo (Fotografia original).....	33
Figura 10 – Neutrófilo canino coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 400x</i> (Fotografia original).....	34
Figura 11 - Neutrófilo canino não segmentado com núcleo em forma de bastonete coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 400x</i> (Fotografia Original)	34
Figura 12 - Neutrófilo canino núcleo em anel ou «donut», coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 400x</i> (Fotografia Original).....	36
Figura 13 - Linfócito canino com cromatina nuclear densa e citoplasma pouco abundante coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 1000x</i> (Fotografia original)	36
Figura 14 - Monócito canino com vacuolos citoplasmáticos, coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 400x</i> (Fotografia original).....	37
Figura 15 – Monócito canino com núcleo em forma de banda e citoplasma basófilico coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 1000x</i> (Fotografia original)	38
Figura 16 – Eosinófilo de um cão com diversos grânulos e alguns vacuolos citoplasmáticos coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 400x</i> (Fotografia original)	38
Figura 17 - Eosinófilo de um cão com dois grandes grânulos citoplasmáticos coloração <i>Wright-Giemsa</i> (Harvey, 2001)	38
Figura 18 – Eosinófilo de cão «Greyhound» com vários vacúolos citoplasmáticos coloração <i>Wright-Giemsa</i> (Harvey, 2001)	39

Figura 19 – Monócito e Basófilo no sangue de cão coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 400x (Fotografia original)</i>	39
Figura 20 – Plaquetas agregadas no sangue de cão coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 100x (Fotografia original)</i>	40
Figura 21 – Microfilaria no esfregaço de sangue periférico de um cão, coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 100x (Fotografia original)</i>	41
Figura 22 - Microfilaria no esfregaço de sangue periférico de um cão, coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 100x (Fotografia original)</i>	41
Figura 23 – Formas de <i>Babesia canis</i> em eritrócitos caninos coloração <i>Wright- Giemsa</i> – (Harvey, 2001)	41
Figura 24 – Mórula de <i>Ehrlichia ewingii</i> no citoplasma de um neutrófilo de cão coloração <i>Wright-Giemsa</i> – <i>Ampliação 1000x (Cowel et.al., 1999)</i>	41
Figura 25 – Cadela Serra da Estrela de 7 meses (Fotografia original)	42
Figura 26 – Cão Serra da Estrela de 5 anos (Fotografia original)	42
Figura 27 – Cão Serra da Estrela de 3 anos (Fotografia original)	43
Figura 28 – Cão Serra da Estrela de 2 meses (Fotografia original)	43
Figura 29 – Cães Serra da Estrela (Fotografia original).....	44
Figura 30 - «IDEXX Lasercyte Hematology Analyzer®».....	49
Figura 31 – Laminas nº9 e nº10 coloração <i>Wright-Giemsa (Fotografia original)</i>	50
Figura 32 - Microscópio «Olympus CX31®».....	50
Figura 33 – Eosinófilo observado num esfregaço de Cão Serra da Estrela coloração <i>Wright-Giemsa</i> - <i>ampliação 1000x (Fotografia original)</i>	51
Figura 34 – Neutrófilo e Linfócito observado num esfregaço sanguíneo de Cão Serra da Estrela coloração <i>Wright-Giemsa</i> - <i>ampliação 400x (Fotografia original)</i>	51
Figura 35 – Percentagem de Cães Serra da Estrela com valores hematológicos fora do intervalo de referência do analisador.	53

Nota Prévia

O presente trabalho foi desenvolvido durante o Estágio Curricular, obrigatório de acordo com o regulamento do Curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária aprovado pelo Conselho Científico da Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

O estágio teve lugar na Clínica Veterinária das Laranjeiras, sita na Rua São Tomás de Aquino, 8-C 1600 Lisboa sob orientação científica do Dr. Luís Cruz que ali desempenha funções de Director Clínico.

Assim, durante o período compreendido entre 17 de Agosto a 30 de Dezembro de 2009, com excepção do mês de Outubro, foram acompanhadas todas as actividades clínicas que ali tiveram lugar e, paralelamente, desenvolvida pesquisa para o tema que constitui esta dissertação.

As actividades clínicas desenvolvidas durante este período consistiram na participação activa e acompanhamento de actos terapêuticos a animais internados, assistência em anestésias, cirurgias, consultas a animais de companhia e exóticos, urgências e técnicas complementares de diagnóstico, tais como radiologia, electrocardiografia e ecografia.

A presente dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária tem como objectivos uma revisão bibliográfica sobre o hemograma no cão saudável e contribuir para a sua caracterização no Cão da Serra da Estrela, variedade de Pêlo Comprido.

1. Introdução

Os exames laboratoriais são reconhecidos como importantes meios de diagnóstico na actividade clínica do médico veterinário.

O hemograma, devido ao seu baixo custo e grande utilidade na actividade clínica, é dos exames mais solicitados na rotina laboratorial, uma vez que ajuda a avaliar a saúde geral do animal, auxilia na determinação do diagnóstico, avalia o progresso de certas doenças e consequente resposta à terapêutica (Rebar, 2003; Cowel, Tyler, & Meinkoth, 1999).

Os valores hematológicos de indivíduos ou grupos de animais são comparados com intervalos de referência calculados para uma dada população, utilizando técnicas laboratoriais semelhantes. As observações obtidas são consideradas normais se entram num determinado intervalo pré-estabelecido.

Este conceito de normalidade é teórico e demasiado simples para ser utilizado no diagnóstico clínico. Parâmetros como: idade, sexo, raça, anamnese, sinais clínicos e incidências locais de determinadas doenças, devem ser tidas em consideração juntamente com outros dados laboratoriais quando se interpretam os valores do hemograma (Lumsden, Mullen, & McSherry, 1979).

Apesar de o hemograma ser um procedimento laboratorial amplamente utilizado na medicina veterinária, a informação sobre os valores hematológicos e características das células sanguíneas de determinadas raças de cães e diferentes faixas etárias ainda está pouco estudada. A raça canina mais documentada é o «Greyhound», sendo notório que muitos dos seus valores hematológicos estão fora, ou nos limites superior e inferior, dos normalmente utilizados como referência para o cão (Cowel et.al., 1999).

Os cães de raça «Beagle», por serem muito utilizados em investigação, também são uma raça cujos intervalos de referência estão bem caracterizados, sendo importante salientar que animais criados em ambiente laboratorial podem apresentar características hematológicas diferentes dos animais da mesma raça mas com vida livre (Harper, Hackett, Wilkinson, & Heaton, 2003).

O Cão da Serra da Estrela é a mais popular das raças autóctones em Portugal. Está desde 1999, nos registos individuais por raça, entre as 8 raças mais registadas no Clube Português de Canicultura (CPC, 1996-2009).

1.1. Aspectos Gerais sobre Hemograma no Cão Saudável

O hemograma é a técnica que possibilita a quantificação e caracterização dos elementos celulares do sangue: eritrócitos, leucócitos e plaquetas. É o exame de primeira linha no estudo da função hematológica, permitindo, além da quantificação de cada tipo de célula sanguínea o estudo da sua morfologia (Lee, 1994; Fauci et al., 1998).

O hemograma completo inclui: contagem de glóbulos vermelhos com índices eritrocitários; contagem de glóbulos brancos; contagem de plaquetas e avaliação da morfologia celular.

A sua realização envolve três passos fundamentais: colheita e processamento da amostra, análise da amostra e por fim avaliação e interpretação dos resultados (Rebar, 2003; Willard & Tvedten, 2004).

A colheita e processamento adequado da amostra são fundamentais para se obter resultados fidedignos. O sangue deve ser colhido por venipunctura periférica de forma asséptica para tubo contendo anticoagulante. Os três anticoagulantes mais utilizados são: ácido etilenodiaminotetracético, EDTA; heparina e citrato trissódico. O EDTA actua quelando o cálcio necessário à coagulação. É o anticoagulante mais indicado para contagens de células sanguíneas em mamíferos, porque induz anticoagulação completa e preserva o detalhe celular (Lee, 1994; Fauci, et al., 1998; Cowel et.al., 1999; Harvey, 2001).

Os tubos comerciais já contêm uma quantidade específica de EDTA para determinado volume total de sangue. Caso o volume de sangue seja superior ao indicado no tubo pode ocorrer a formação de coágulos, e caso seja inferior pode causar diminuição do hematócrito por diluição e deformação celular (Lee, 1994; Harvey, 2001).

Após colheita o sangue deverá ser homogeneizado e analisado o mais rapidamente possível. Se a amostra não for analisada 2 a 3 horas após colheita, deverá ser refrigerada a 4°C até um período máximo de 24 horas. Com o passar do tempo, o hematócrito e volume corpuscular médio, VCM, tendem a aumentar enquanto que, a concentração de hemoglobina corpuscular média, CHCM, tende a diminuir. A contagem global de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito e índices eritrocitários, têm normalmente alterações mínimas se o sangue for refrigerado durante 24 horas (Willard & Tvedten, 2004).

Imediatamente após a colheita, para cada amostra de sangue deve ser preparado um esfregaço em lâmina de vidro (Harvey, 2001).

A determinação dos valores do hemograma pode ser realizada através de métodos manuais ou automáticos. Nos métodos manuais recorre-se após diluição e lise celular à observação microscópica da amostra utilizando uma câmara de «Neubauer». Nos métodos automáticos a determinação baseia-se no uso de técnicas que avaliam variações de

impedância do fluxo eléctrico ou de dispersão ou absorção de luz produzida pelas diferentes células (Day, Mackin, & Littlewood, 2000).

O analisador utilizado neste estudo, o «IDEXX Lasercyte Hematology Analyzer®», utiliza o método da citometria de fluxo. Nesta técnica as células são incididas por um laser cujo grau de absorção ou dispersão da luz é relacionado com o tamanho, morfologia e complexidade celular (Willard & Tvedten, 2004).

Contudo, esta determinação automática, por ser baseada em características médias e pelo facto das células sanguíneas dos cães terem uma grande diversidade de padrões morfológicos, poderá conduzir a resultados menos específicos. Para minorar este erro, uma análise do esfregaço sanguíneo reveste-se de grande importância de forma a complementar e confirmar os resultados obtidos assim como avaliar a morfologia celular (Lee, 1994; Day et.al., 2000).

A avaliação do esfregaço sanguíneo permite ainda obter outras informações úteis para o diagnóstico. Determinadas alterações na morfologia dos eritrócitos podem ser sugestivas de perda de sangue crónica, exposição a tóxicos, doenças vasculares ou doenças imunomediadas primárias. Do mesmo modo, alterações na morfologia dos leucócitos podem ser o primeiro achado laboratorial sugestivo de alguma doença hereditária ou leucemia (Cowel et.al., 1999).

Os intervalos de referência são calculados através de uma média de determinações realizadas numa população clinicamente sã e, portanto, obedecendo a uma curva de distribuição normal. Deste modo, pode existir uma pequena percentagem de animais da população saudável com resultados laboratoriais próximos aos extremos de referência «border line» ou fora deles e, animais doentes com valores dentro do intervalo de referência (Lopes, Biondo, & Santos, 2007). Para correcta interpretação dos resultados obtidos numa determinação, é necessária compreensão da fisiologia e fisiopatologia dos diversos mecanismos do sistema hematopoiético e as variações quantitativas e morfológicas das células sanguíneas na resposta à doença (Rebar, 2003).

Sendo conhecido que indivíduos ou elementos de determinado grupo podem ter características únicas, os melhores valores de referência são sempre os do próprio paciente, determinados quando saudável. No cálculo da magnitude da alteração, de um indivíduo, não deve ser utilizado como termo de comparação, um intervalo de valores mas sim um valor médio, por exemplo hematócrito de 45% em vez do intervalo 37— 55% (Willard & Tvedten, 2004).

É importante salientar que os valores de referência a considerar devem ser os estabelecidos para cada laboratório de diagnóstico e para cada técnica específica (Cowel et.al., 1999).

1.1.1. Componentes do Hemograma

1.1.1.1. Eritrograma

O eritrograma caracteriza a população eritrocitária da amostra. Baseia-se em três parâmetros quantitativos: hematócrito, concentração de hemoglobina e contagem global de eritrócitos.

Três índices adicionais permitem ainda descrever as características qualitativas médias, e são: Volume Corpuscular Médio - VCM; Hemoglobina Corpuscular Média - HCM e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média -CHCM.

Muitos autores consideram ainda a contagem de reticulócitos como parte integrante do hemograma uma vez que este parâmetro se refere ao número de eritrócitos imaturos presentes na amostra (Lee, 1994).

Contagem Global de Eritrócitos, Concentração de Hemoglobina e Hematócrito

Contagem global de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito são medidas directas da massa de células vermelhas ou da capacidade de transporte de oxigénio no sangue (Rebar, 2003)

Estes parâmetros são responsáveis pela definição dos conceitos de anemia e policitémia. Define-se anemia quando: os eritrócitos, concentração de hemoglobina e/ou hematócrito estão abaixo dos valores mínimos de referência. Designa-se policitémia, ou eritrocitose, quando aqueles parâmetros estão acima dos valores máximos de referência (Cowel et.al., 1999).

Em circunstâncias especiais, a anemia pode ser considerada num animal com hematócrito a diminuir ao longo do tempo, mesmo que este permaneça dentro dos intervalos de referência (Nelson & Couto, 2006).

A anemia pode ser classificada como relativa ou absoluta. Anemia relativa deve-se à expansão do volume plasmático que ocorre por exemplo em fêmeas gestantes, recém-nascidos ou após fluidoterapia. Anemia absoluta é a forma mais comum de anemia, e pode ser classificada de várias formas, de acordo com critérios de avaliação como a morfologia dos eritrócitos, mecanismos patogénicos que lhe dão origem ou, resposta eritróide da medula óssea (Cowel et.al., 1999).

Relativamente à resposta da linha eritróide da medula óssea, a anemia pode ser classificada como regenerativa ou não regenerativa. Anemia regenerativa é normalmente resultado de hemorragia ou hemólise e caracteriza-se por resposta da medula óssea e presença de eritrócitos imaturos no sangue. Na anemia não regenerativa, a resposta da

medula óssea é ineficaz ou inadequada. As causas de anemia são várias, e muitas vezes é necessário um mielograma para esclarecer o grau de afecção medular e respectiva causa (Day et.al., 2000; Rebar, 2003).

A presença de panleucopénia, particularmente neutropénia, e trombocitopénia concomitantes com anemia são factores bastante sugestivos de patologia medular primária (Cowel et.al., 1999).

Policitémia, ou eritrocitose é, tal como a anemia, também classificada como relativa ou absoluta. Policitémia relativa é a forma mais comum de policitémia e ocorre como resultado da redução do volume plasmático devido a desidratação ou a aumento da massa de células vermelhas secundária a contracção esplénica (Nelson & Couto, 2006; Rebar, 2003; Cowel et.al., 1999). A contracção esplénica, que pode ocorrer após exercício ou como resposta à epinefrina libertada em animais excitados, com medo ou dor, normalmente é caracterizada, por aumento temporário do hematócrito sem aumento das proteínas plasmáticas (Cowel et.al., 1999).

Policitémia absoluta é definida como elevação no número de eritrócitos circulantes devido a um aumento na produção destas células e é mais comum em resultado de hipoxia, crónica (Cowel et.al., 1999). A policitémia absoluta pode ser classificada como primária quando ocorre devido a um processo mieloproliferativo, caracterizado por proliferação exacerbada de células eritróides ou, secundária devido a aumento da concentração de eritropoietina sérica (Nelson & Couto, 2006; Rebar, 2003).

Intervalos de referência reflectem a situação real em 95% da população canina em geral mas, ocasionalmente, um valor «anormal» pode ser considerado normal para os animais em questão, o que leva à avaliação desnecessária da presença de doença (Nelson & Couto, 2006).

Por exemplo, nas raças de cães «Greyhound», Galgo Afegão, «Saluki», «Whippet» e «Belgian Tervuren» os intervalos de referência hematológicos são diferentes dos normalmente utilizados para a população canina em geral. Os valores de hemoglobina e hematócrito tendem a ser mais elevados que o normal (Clark & Parry, 1997; Cowel et.al., 1999; Greenfield, Messick, Solter, & Schaeffer, 2000; Steiss, Brewer, Welles, & Wright, 2000).

São ainda exemplos desta condição valores fisiológicos de hematócrito superiores a 50% em cães de raça Caniche, Pastor Alemão, «Boxer», «Beagle», «Dachshunds», «Chihuaua» e «Greyhounds» (Harper et.al., 2003; Willard & Tvedten, 2004). Os cães de raça São Bernardo tendem a ter valores de hematócrito no limite superior do intervalo de referência, entre 35 e 40% (Willard & Tvedten, 2004).

Cães de caça/trabalho e cães que vivam em locais de alta altitude também tendem a apresentar hematócrito acima do intervalo de referência para a espécie (Nelson & Couto, 2006). Está descrito (Davis & Davis, 2008) em cães de trenó sujeitos de forma contínua a exercício físico extremo uma diminuição do hematócrito e da concentração de hemoglobina.

Uma outra situação de anemia relativa verifica-se nos animais muito jovens que tendem a ter hematócrito mais baixo, pois ao crescer aumentam rapidamente o espaço vascular (Cowel et.al., 1999). Em estudos efectuados em «Beagles» jovens e geriátricos verificou-se que, após o desmame, as contagens eritrocitárias, hemoglobina e hematócrito eram inferiores aos valores de referência para cães adultos, enquanto que em «Beagles» geriátricos os valores encontravam-se dentro dos intervalos de referência (Harper et.al., 2003; Swanson, Kuzmuk, Schook, & Fahey, 2004).

Para além da idade, o estado hormonal e o sexo desempenham uma função importante na regulação eritrocitária. Os andrógenos aumentam a concentração de glóbulos vermelhos, estimulando a produção de eritropoietina ou potenciando a sua acção na medula. Os estrógenos, por sua vez, apresentam efeito inibidor sobre a eritropoiese, assim, os machos têm tendência a apresentar uma maior contagem de eritrócitos que as fêmeas (Lopes et.al., 2007).

Um estudo (Feldman, Zinkl, & Jain, 2000) efectuado em «Beagles» revelou que os machos tinham uma concentração de hemoglobina ligeiramente mais elevada do que as fêmeas, 16g/dL versus 15.6 g/dL. A magnitude desta alteração não é provável ser clinicamente significativa, uma vez que ambos os valores se encontram dentro dos parâmetros de referência para cães adultos. Outro estudo (Clark & Parry, 1997) não verificou estas diferenças entre machos e fêmeas em indivíduos da raça «Irish wolfhound»

Por seu lado, as fêmeas gestantes apresentam alterações significativas no eritrograma. Num estudo (Feldman et.al., 2000) efectuado em «Beagles», o hematócrito de fêmeas gestantes variou de 53% no início da gestação até 32% no final.

Valores da contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito em cães adultos saudáveis situam-se entre 5.5 e 8.5 $\times 10^6/\mu\text{L}$, 12 e 18 g/dL e 37 e 55 % respectivamente (Feldman et.al., 2000).
--

Índices Eritrocitários

Designam-se como índices eritrocitários: o Volume Corpuscular Médio - VCM e a Concentração de Hemoglobina Média - CHCM.

Estes índices possibilitam a classificação morfológica das anemias, em macrocítica, normocítica e microcítica considerando o tamanho e saturação de hemoglobina dos eritrócitos. Apesar desta nomenclatura não ser específica da etiologia da anemia, é, clinicamente útil no que respeita à sua classificação fisiopatológica e capacidade regenerativa (Day et.al., 2000).

O VCM é traduzido como o volume corpuscular médio de um eritrócito, sendo obtido através da seguinte fórmula (Day et.al., 2000):

$$VCM = \frac{\text{Hematócrito} \times 1000}{\text{Contagem de eritrócitos}}$$

Tendo em conta o VCM a anemia pode classificar-se: macrocítica quando o VCM está acima dos valores normais; normocítica quando o VCM se apresenta dentro dos valores fisiológicos, e microcítica quando está abaixo dos valores considerados normais para a espécie (Day et.al., 2000).

Os valores normais de VCM variam bastante entre as diferentes raças e são independentes do tamanho do animal. No entanto animais jovens tendem a ter eritrócitos maiores em relação a animais adultos (Feldman et.al., 2000) e o VCM diminui rapidamente após o nascimento atingindo valores normais às 4 semanas de idade (Harper et.al., 2003).

Algumas linhagens de cães Caniche «Toy» e Caniche Anão aparentam ter macrocitose hereditária associada a eritropoiese anormal. Nestes animais as contagens de eritrócitos estão abaixo do valor inferior de referência, mas devido ao aumento do tamanho dos eritrócitos e da concentração de hemoglobina, o seu hematócrito encontra-se dentro dos valores de referência. Nesses animais o VCM pode variar entre 84,5 e 106,7 fL (Feldman et.al., 2000).

Outras exceções fisiológicas verificam-se em cães de raça «Akita Japonês» e «Shiba Japonês» que têm eritrócitos microcíticos com um VCM que varia entre 55 a 65fL (Day et.al., 2000; Feldman et.al., 2000; Greenfield et.al., 2000).

Em cães adultos saudáveis, os valores normais de VCM são de 60 a 77 fL (Feldman et.al., 2000).

A CHCM é definida como o grau de saturação em hemoglobina de um eritrócito.

Este valor é calculado pela divisão da concentração de hemoglobina pelo valor de hematócrito. A CHCM permite a classificação da anemia em normocrômica quando o seu valor está dentro do intervalo de referência ou hipocrômica quando é inferior ao intervalo de referência (Day et.al., 2000).

A CHCM é uma característica independente da raça.

Como os eritrócitos são saturáveis com hemoglobina, um aumento na CHCM não é clinicamente possível. Deste modo, valores de CHCM acima dos fisiológicos só podem ser obtidos quando ocorre uma das seguintes situações: quantidade de EDTA na amostra é maior que a recomendada e ocorre hemólise ou, devido a erro laboratorial na determinação do hematócrito ou hemoglobina (Coelho, 2006).

Uma anemia regenerativa caracteriza-se normalmente por aumento do VCM e diminuição da CHCM devido à presença de reticulócitos em circulação, que são células maiores e com menos hemoglobina que os eritrócitos (Rebar, 2003).

É importante salientar que, se as amostras não forem processadas 2 a 3 horas após colheita devem ser refrigeradas a 4°C pois, à temperatura ambiente, os eritrócitos têm tendência a perder a hemoglobina, o que pode conduzir à diminuição da CHCM (Day et.al., 2000; Willard & Tvedten, 2004).

O valor normal de CHCM em cães está compreendido entre 32 e 36 g/dl (Feldman et.al., 2000).

Reticulócitos

Reticulócitos, também denominados de policromatófilos, são eritrócitos imaturos com ribossomas e mitocôndrias no citoplasma, que lhes conferem uma coloração azulada sob a acção de corantes específicos. A sua presença é referida como policromasia ou policromatofilia (Rebar, 2003).

A presença destes organelos permite a síntese de mais de 20% do conteúdo final da hemoglobina do eritrócito (Lopes et.al., 2007)

Para efectuar a contagem de reticulócitos é necessário a utilização de corantes designados supravitais, como o novo-azul-de-metileno ou azul brilhante de cresil, que precipitam as organelas, apresentando-se na célula como pontos basofílicos (Rebar, 2003; Cowel et.al., 1999).

Existem dois tipos de reticulócitos classificados, consoante a sua apresentação em agregados e pontilhados. Reticulócitos agregados são células grandes com organelas fortemente agrupadas, enquanto que, reticulócitos pontilhados são células mais maduras, que apresentam pontos e grânulos de ácido ribonucleico, RNA, residual num padrão mais disperso (Feldman et.al., 2000).

Os reticulócitos são células maiores que os eritrócitos maduros, sendo responsáveis pela macrocitose e anisocitose verificadas durante o exame microscópico do esfregaço sanguíneo (Harvey, 2001).

Na figura seguinte apresenta-se um esquema da maturação eritrocitária.



Figura 1 – Maturação dos eritrócitos caninos (Adaptado de Harvey, 2001)

Da mesma forma que os seres humanos, os cães com anemias regenerativas, respondem com a produção de reticulócitos do tipo agregados. Os reticulócitos pontilhados também são observados em cães, mas o seu número é sempre muito pequeno para se justificar uma contagem separada de reticulócitos agregados e pontilhados (Cowel et.al., 1999; Feldman et.al., 2000).

Em situação normal os reticulócitos permanecem na medula óssea dois a três dias após a sua produção, antes de passarem para o sangue periférico por diapedese. A sua libertação para o sangue é controlada através de um grande número de factores, sendo alguns exemplos a concentração de eritropoietina, a deformabilidade capilar e a carga de superfície dos reticulócitos. Quando ocorre hipoxia tecidual ou durante eritropoiese intensa, os reticulócitos podem ser libertados prematuramente na circulação sanguínea (Lopes et.al., 2007).

Cães adultos saudáveis têm normalmente menos de 1% de reticulócitos em circulação no sangue periférico. Animais recém-nascidos têm contagens de reticulócitos bastante mais elevadas devido à intensa eritropoiese associada ao aumento de volume vascular. Assim, contagens de reticulócitos até 10% podem ser encontradas em animais saudáveis com menos de 2 meses de idade. Este valor diminui para os valores próximos dos normais em adultos por volta dos 5/6 meses de idade (Feldman et.al., 2000).

A presença de reticulocitose e policromasia são indicadores de intensa eritropoiese. A sua presença ou ausência permite assim classificar as anemias em regenerativas ou não regenerativas. Numa situação regenerativa, normalmente, ocorre uma resposta medular máxima por volta dos 7 dias após o início da anemia (Cowel et.al., 1999).

Índice de produção de reticulócitos maior que 1 % ou contagem de reticulócitos superior a 60.000/ μ L são indicadores da presença de uma anemia regenerativa (Feldman et.al., 2000; Day et.al., 2000)

1.1.1.2. Leucograma

O leucograma, avaliado como parte integrante do hemograma, inclui a quantificação de leucócitos, contagem diferencial e correspondente análise morfológica.

Embora de pouca utilidade para o diagnóstico de uma patologia específica, é útil para excluir diagnósticos diferenciais ou para prever a gravidade da doença e o seu eventual prognóstico. Os leucogramas sequenciais são ainda úteis na monitorização de resposta à terapêutica instituída como por exemplo, no caso de processos infecciosos e/ou inflamatórios (Nelson & Couto, 2006).

Um estudo recente (Frazão, 2008), em que os autores avaliaram alterações leucocitárias como factor de prognóstico na evolução clínica da parvovirose canina, concluiu que a avaliação da contagem total de leucócitos pode contribuir como factor de prognóstico em canídeos com parvovirose. Pacientes com leucopénia severa a moderada no momento do diagnóstico apresentam maior mortalidade quando comparados com canídeos com leucopénia ligeira, valores normais ou leucocitose.

Contagem Global de Leucócitos

O termo leucócito inclui todas as células brancas do sangue e seus precursores. Estas células são produzidas na medula óssea e utilizam a corrente sanguínea como meio de transporte da medula para os tecidos. A sua quantidade circulante reflecte o equilíbrio dinâmico entre produção e consumo (Lopes et.al.2007; Frazão, 2008).

Do ponto de vista morfológico, tendo em conta a presença de grânulos no citoplasma, os leucócitos podem ser classificados em granulócitos ou agranulócitos. Granulócitos incluem os neutrófilos, eosinófilos e basófilos. Os agranulócitos incluem monócitos e linfócitos (Feldman et.al., 2000; Harvey, 2001).

Considera-se que existe leucocitose quando a contagem de leucócitos excede o limite máximo de referência para a espécie, e consequentemente, leucopénia define o fenómeno oposto (Nelson & Couto, 2006).

A leucocitose pode classificar-se como fisiológica, reactiva ou proliferativa. Mudanças na contagem total de leucócitos podem envolver ainda, anomalias de produção, libertação, distribuição intravascular e na vida média dos diferentes leucócitos (Lopes et.al., 2007).

O desenvolvimento pós-natal das várias linhas celulares leucocitárias varia ao longo do crescimento, uma vez que, o sistema imunitário canino se encontra imaturo ao nascimento. Fisiologicamente a contagem de leucócitos em cachorros pode chegar a duplicar o limite superior de referência para cães adultos (Harper et.al., 2003).

Dos leucócitos em circulação durante as primeiras semanas de vida, existe durante a primeira semana, uma predominância de neutrófilos que com o passar do tempo se altera para uma predominância transitória de linfócitos. Esta proporção é revertida entre o 1º e 3º mês de idade quando as percentagens de neutrófilos e linfócitos sanguíneos estabilizam, e igualam as do cão adulto (Lopes et.al., 2007; Frazão, 2008).

Durante a gravidez, o número total de leucócitos pode aumentar ligeiramente perto do parto até 19 000/ μ L. As contagens de leucócitos diminuem para o intervalo de referência a partir do início da lactação, podendo voltar ao normal só após o desmame (Feldman et.al., 2000).

Em «Greyhounds» os valores de leucócitos tendem a encontrar-se no limite inferior de referência (Steiss et.al., 2000) e está descrita uma leucopénia fisiológica em cães «Belgian Tervuren», uma variedade do Cão Pastor Belga (Greenfield et.al., 2000). Em cães submetidos a exercício físico extremo os valores de leucócitos podem estar acima dos valores considerados de referência (Davis & Davis, 2008).

Valores normais da contagem global de leucócitos para cães situam-se entre 6.000 e 17.000/ μ L (Feldman et.al., 2000).

Contagem Diferencial de Leucócitos

A contagem diferencial de leucócitos pode ser reportada em números relativos, em números absolutos, em percentagem ou em número de células por microlitro.

É o número absoluto, e não a percentagem que deve ser avaliado, pois a ultima não reflecte de forma objectiva a fórmula leucocitária, especialmente, se a contagem de leucócitos estiver muito aumentada ou diminuída (Harvey, 2001; Nelson & Couto, 2006).

Neutrófilos

Os neutrófilos são produzidos na medula óssea e libertados para a corrente sanguínea, onde têm um tempo médio de circulação de aproximadamente 6 a 8 horas em cães. A cada 2 a 2,5 dias dá-se a reposição de todos os neutrófilos, migrando depois, por diapedese de forma unidireccional, para os pulmões, intestino, outros tecidos ou fluidos orgânicos tais como urina ou saliva onde acabam por ser eliminados (Rebar, 2003; Nelson & Couto, 2006).



Figura 2 – Neutrófilo coloração *Wright-Giemsa* – Ampliação 400x (Fotografia original)

Os neutrófilos são os granulócitos circulantes predominantes. Apesar da sua função primária ser a fagocitose de microrganismos, estas células participam na resposta inflamatória, local ou sistémica, e exercem uma função secretora através da libertação de moléculas biologicamente activas como as prostaglandinas (Rebar, 2003).

Diminuição, neutropénia, ou aumento, neutrofilia, no número de neutrófilos têm, normalmente, significado clínico. A neutropénia pode, por exemplo, resultar da diminuição ou defeito na produção celular na medula óssea ou do sequestro ou destruição de neutrófilos circulantes como acontece em algumas doenças infecciosas ou imunomediadas (Nelson & Couto, 2006; Frazão, 2008).

Como causas mais comuns de neutropénia associada a uma produção reduzida na medula óssea são conhecidas infecções tais como a parvovirose canina e ehrlichiose e determinadas drogas como por exemplo trimetoprim-sulfa, fenilbutazona, estrógenos e ainda alguns agentes quimioterápicos (Wyatt & Wyatt, 2002; Lopes et.al., 2007).

Outro exemplo, no qual a neutropénia ocorre como causa de uma doença hereditária autossómica recessiva presente apenas em cães de raça «Collie» cinzentos é a hematopoiese cíclica. Estes animais apresentam oscilações na produção dos factores estimulantes hematopoiéticos, como a eritropoietina e trombopoietina, e consequente produção cíclica das células sanguíneas. Em conjunto apresentam também, trombocitopénia

e anemias discretas e sofrem alto risco de infecções e sépsis devido à neutropénia, que pode ser intensa. Esta doença causa igualmente lesões articulares e sistémicas (Feldman et.al., 2000).

Em cães saudáveis da raça «Belgian Tervuren» está descrita uma neutropénia fisiológica diferente da neutropénia cíclica dos «Collies» cinzentos. Estes animais não apresentam sinais clínicos de patologia e a neutropénia não parece afectar a sua longevidade (Greenfield et.al., 2000).

Neutrofilia é a causa mais comum de leucocitose em cães e gatos, e pode ocorrer normalmente associada a três mecanismos: i) mediada pela epinefrina em resposta fisiológica a medo, excitação ou esforço físico; ii) induzida por corticosteróides endógenos ou exógenos; iii) associada a inflamação ou a infecção, que se pode acompanhar por um aumento nos neutrófilos imaturos e/ou alterações tóxicas dos neutrófilos (Frazão, 2008).

Na neutrofilia mediada pela epinefrina, o compartimento marginal de neutrófilos e/ou linfócitos é mobilizado para a circulação sanguínea, o que faz aumentar a contagem total de leucócitos e o número absoluto de neutrófilos e/ou linfócitos. Manifesta-se assim por neutrofilia ou linfocitose transitória. Esta condição é comum em animais jovens sendo geralmente desencadeada por distúrbios emocionais e físicos. Nestes casos, raramente o número de monócitos e eosinófilos aumenta (Lopes et.al., 2007).

Neutrofilia induzida por corticosteróides ocorre, normalmente, concomitantemente com linfopénia, eosinopénia e monocitose. Caracterizando assim o que normalmente se designa por leucograma de stress.

A neutrofilia ocorre devido à mobilização dos neutrófilos segmentados do compartimento de reserva da medula óssea e por diminuição da diapedese das células para os tecidos. Linfopénia, ocorre principalmente por linfolise dos linfócitos T sensíveis a esteróides no sangue e tecido linfóide, ou, por marginação e sequestro dos linfócitos em locais extra vasculares. Eosinopénia ocorre, principalmente, por diminuição da saída destas células da medula óssea, devido à interferência com o efeito quimiotáctico da histamina nos eosinófilos. A causa de monocitose permanece ainda desconhecida. A resposta dos basófilos aos corticosteróides é similar à dos eosinófilos, mas não é reconhecida usualmente, porque os basófilos são células pouco frequentes no sangue (Lopes et.al., 2007).

As contagens normais de neutrófilos segmentados e bastonetes em cães estão situadas entre 3.000 e 11.500/ μ L e 0 e 300/ μ L, respectivamente (Feldman et.al. 2000).
--

Alterações fisiológicas no número total de leucócitos e neutrófilos foram reportadas em «Beagles» durante os primeiros 2 meses de vida mas, com pequenas exceções, os valores mantiveram-se dentro dos intervalos de referência (Feldman et.al.2000).

Linfócitos

Os linfócitos são das principais células do sistema imunitário e dividem-se em: i) linfócitos circulantes; ii) linfócitos que se encontram nos órgãos linfóides primários como a medula óssea e timo nos animais jovens e iii) linfócitos que se encontram nos órgãos linfóides secundários como os gânglios linfáticos, baço, placas de *Peyer* e tecidos linfóides associados aos brônquios. A maioria dos linfócitos encontra-se nos órgãos linfóides primários, a percentagem que se encontra em circulação é pequena e tem como origem os linfonodos (Harvey, 2001).



Figura 3 - Linfócito canino coloração Wright-Giemsa – Ampliação 400x (Fotografia original)

Os linfócitos são agrupados em diferentes subpopulações consoante o seu fenótipo e função: linfócitos B responsáveis por imunidade humoral e linfócitos T, responsáveis pela imunidade mediada por células. Na maioria das espécies aproximadamente 70% dos linfócitos circulantes são células T (Rebar, 2003).

Linfócitos são células de vida longa e atingem uma longevidade de meses a anos. Os linfócitos-T de memória podem, sob estímulos adequados, manter a capacidade de se multiplicarem por mitose (Nelson & Couto, 2006).

Pode ocorrer, um aumento no número de linfócitos circulantes, designado por linfocitose, em diferentes situações inflamatórias / infecciosas tais como: após vacinação; no caso de Erliquiose crónica; hipoadrenocorticism; linfossarcomas e leucemias linfocíticas, sendo, nestes dois últimos casos, eventos tardios.

Um aumento transitório do número de linfócitos circulantes, e outros leucócitos, é comum em animais excitados como resposta à epinefrina (Cowel et.al., 1999).

A diminuição no número total de linfócitos, designado linfopénia, ocorre normalmente devido a: presença de níveis elevados de inibidores da linfopoiese em circulação, como glucocorticóides e quimioterápicos; sequestro de linfa como no quilotórax ou linfangiectasia intestinal; em alguns linfossarcomas e na fase aguda de uma infecção viral (Rebar, 2003; Nelson & Couto, 2006; Frazão, 2008).

Valores de linfócitos, para cães normais, estão compreendidos entre 1.000 e 4.800/ μ L (Feldman et.al., 2000).

Contagens linfocitárias entre 2.000 a 10.000 / μ L são comuns em cães com menos de 6 meses. Nestes animais, considera-se linfopénia se os valores de linfócitos forem inferiores a 2.000 / μ L. Após este período normalmente as contagens hematológicas têm poucas alterações (Cowel et.al., 1999; Feldman et.al., 2000).

Em cães saudáveis da raça «Belgian Tervuren» está ainda descrita uma linfopénia fisiológica (Greenfield et.al., 2000).

Monócitos

Monócitos originam-se na medula óssea e após maturação entram na circulação periférica de onde migram para tecidos onde se continuam a desenvolver e se diferenciam em macrófagos ou histiócitos (Harvey, 2001).

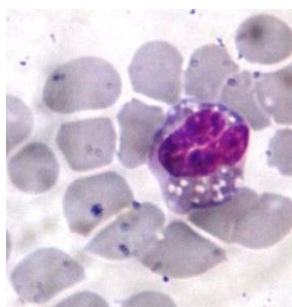


Figura 4 - Monócito canino coloração Wright-Giemsa – Ampliação 1000x (Fotografia original)

As funções dos monócitos, além da fagocitose de microorganismos são: i) contribuição para a regulação da resposta inflamatória através da libertação de mediadores inflamatórios; ii) processamento de antígenos; iii) produção de citocinas; iv) reparação tecidual e v) participação na regulação do armazenamento de ferro do organismo (Rebar, 2003; Lopes et.al., 2007).

Monocitose, aumento do número absoluto de monócitos no sangue, é comum em leucogramas de cães com doença crónica e no leucograma de stress onde está frequentemente associada a neutrofilia (Nelson & Couto, 2006).

Devido à grande variação nos valores de referência dos monócitos, monocitopenia é de difícil quantificação e raramente documentada nos animais domésticos.

Nos casos em que ocorre monocitopenia associada a neutropénia a monitorização do número de monócitos sanguíneos pode ser útil em termos de prognóstico pois os monócitos têm um tempo de maturação celular mais curto sendo libertos na corrente sanguínea mais depressa que os neutrófilos. Deste modo, neutropénia seguida de monocitose, normalmente, sugere um melhor prognóstico.

O valor de referência dos monócitos, para cães, situa-se entre 150 a 1.350/ μ L (Feldman, Zinkl, & Jain, 2000).

Em cães saudáveis da raça «Belgian Tervuren» está descrita a presença de monocitopenia fisiológica (Greenfield et.al., 2000)

Eosinófilos

Eosinófilos, são produzidos maioritariamente na medula óssea sob controlo dos linfócitos-T, embora, a sua produção, também ocorra em menor grau noutros tecidos como o baço, timo e linfonodos cervicais (Frazão, 2008; Lopes et.al., 2007).



Figura 5 - Ilustração de um Eosinófilo canino (Harvey, 2001)

Os eosinófilos participam na regulação da resposta alérgica e resposta inflamatória através: da modulação da actividade dos mastócitos; de propriedades anti-inflamatórias e da acção de substâncias dos seus grânulos, como a serotonina e a bradiquinina (Rebar, 2003).

Outra função importante dos eosinófilos é o controlo de infecções parasitárias ao fixarem-se na superfície dos parasitas pois, desgranulam promovendo uma acção parasiticida (Lopes et.al., 2007).

Eosinopenia, definida pela diminuição no número absoluto de eosinófilos circulantes, é encontrada, muitas vezes, como parte do leucograma de stress atribuindo-se, normalmente, pouca relevância clínica.

Eosinofilia, que corresponde ao aumento no número absoluto de eosinófilos circulantes, é bastante comum em infecções parasitárias como no caso de dirofilariose; distúrbios de hipersensibilidade como na atopia, alergias alimentares, dermatite alérgica à picada de pulga; distúrbios infiltrativos eosinofílicos como colite/gastroenterite eosinofílica e ainda doenças infecciosas e/ou neoplásicas (Nelson & Couto, 2006).

Valores normais de eosinófilos, em cães adultos, são de 100 a 1.250/ μ L (Feldman et.al., 2000).

Cães de raça Pastor Alemão podem apresentar contagens de eosinófilos acima do valor de referência para outras raças. A causa deste fenómeno é desconhecida mas não parece ter importância clínica (Day et.al., 2000).

Basófilos

São células pouco frequentes no sangue e medula óssea, sendo frequentemente comparados com os mastócitos devido a algumas semelhanças morfológicas e funcionais (Feldman et.al., 2000).

Os grânulos dos basófilos contêm histamina que desempenha um papel fundamental nas reacções de hipersensibilidade imediata e heparina, que tem efeito anticoagulante importante no processo inflamatório (Rebar, 2003).



Figura 6 - Ilustração de um Basófilo canino (Harvey, 2001)

Os basófilos são produzidos na medula óssea e têm o mesmo precursor dos mastócitos tissulares. Basófilos não se diferenciam em mastócitos, mas ambas as células desempenham funções similares. Basófilos activos são capazes de sintetizar diversas citocinas que iniciam ou modulam a resposta inflamatória (Lopes et.al., 2007).

1.1.1.3. Trombocitograma

Contagem de Plaquetas

Plaquetas ou trombócitos são pequenos fragmentos, redondos a ovais, anucleados, produzidos na medula óssea através da fragmentação do citoplasma dos megacariócitos (Harvey, 2001).

A função primária destas células é manutenção da hemostasia. São a primeira linha de defesa quando os vasos sanguíneos são danificados e actuam através da: aderência ao subendotélio; agregando-se; recrutando plaquetas adicionais para a área e facilitando a formação local de trombina e fibrina num micro ambiente que a assegura rápida formação do trombo (Feldman et.al., 2000).

As plaquetas desempenham função importante na inflamação através da libertação de mediadores solúveis que modulam a actividade de outras células sanguíneas e do endotélio vascular (Rebar, 2003).

Desordens plaquetárias são classificadas em quantitativas ou qualitativas. Desordens quantitativas incluem: trombocitopénia, que corresponde a uma diminuição no número de plaquetas circulantes e trombocitose, caracterizada por um aumento do número de plaquetas circulantes. Trombocitopénia representa a causa mais comum de hemorragia espontânea, sendo que, a sua importância clínica não deve ser subestimada (Nelson & Couto, 2006; Rebar, 2003).

Trombocitopénia pode ocorrer em resultado da diminuição da produção, aumento no consumo ou destruição das plaquetas (Nelson & Couto, 2006).

A diminuição na sua produção pode ocorrer devido a infecção por *Ehrlichia canis*; processos neoplásicos; patologias imunomediadas ou pela acção de fármacos tais como: agentes quimioterápicos, antibióticos ou anti-fúngicos. O aumento no consumo das plaquetas está associado à coagulação intravascular disseminada, hemangiossarcomas, vasculites e outros danos vasculares. O aumento na destruição das plaquetas é resultante do aumento da fagocitose de plaquetas pelo Sistema Mononuclear Fagocítico ou mecanismos imunomediados, tendo como principal causa a trombocitopénia imunomediada e o aumento do sequestro de plaquetas devido a esplenomegalia ou hepatomegalia (Nelson & Couto, 2006; Rebar, 2003; Cowel et.al., 1999).

A trombocitose é muito menos comum que a trombocitopénia e pode ser: reactiva; transitória, devido a um aumento na produção de plaquetas, ou idiopática. Trombocitose reactiva normalmente é devida a: hemorragia ou hemólise aguda; aumento da eritropoiese e granulopoiese, como no caso da inflamação crónica. Trombocitose transitória está

associada a uma contracção esplénica, drogas como corticosteróides, epinefrina ou vincristina; hiperadrenocorticism, ou após esplenectomia. Aumento da produção plaquetária está associado a patologias mieloproliferativas como leucemia plaquetária. Estão descritas ainda causas para-neoplásicas como no carcinoma espinocelular, no mastocitoma ou na deficiência em ferro (Cowel et.al., 1999; Rebar, 2003).

A “policitémia vera” é uma patologia mieloproliferativa primária que se caracteriza, além da eritrocitose por trombocitose (Harvey, 2001).

Valores normais da contagem de plaquetas para cães estão compreendidos entre 200.000 e 500.000/ μ L (Feldman et.al., 2000).

Nos «Greyhounds» as contagens de plaquetas tendem a encontrar-se no limite inferior de referência (Steiss et.al., 2000). Foi reportado em 36 «Greyhounds» de corrida aparentemente saudáveis, uma média da contagem plaquetária de 154.000 / μ L, $\pm$ 43.000/ μ L (Feldman et.al., 2000).

Volume Plaquetário Médio

Volume plaquetário médio, VPM, é o tamanho médio estimado das plaquetas e é inversamente proporcional ao número de plaquetas (Feldman et.al., 2000).

Plaquetas do tamanho ou maiores que eritrócitos são denominadas de macroplaquetas, megaplaquetas ou macrotrombocitos. Aumento do VPM é sugestivo de resposta trombopoética e ocorre em consequência da: destruição plaquetária em algumas doenças mieloproliferativas, no hipertireoidismo ou em animais em recuperação de trombocitopénia (Harvey, 2001).

Em população saudável de cães de raça «Cavalier King Charles» e cães de raças «Otterhound», «Foxhounds» e «Scottish Terrier» com deficiência plaquetária hereditária, foi reportada associação de macroplaquetas com trombocitopénia moderada (Harvey, 2001; Day et.al., 2000; Willard & Tvedten, 2004).

Falsos aumentos do VPM estão associados à exposição ao EDTA quando as plaquetas são mantidas em ambiente refrigerado. Diminuição do VPM pode estar relacionada com trombocitopénia imunomediada em fase inicial e deficiência de trombopoiese medular (Feldman et.al., 2000; Rebar, 2003).

Valor normal em cães, varia conforme autores, normalmente está compreendido entre 3,9 e 6,1 fL (Willard & Tvedten, 2004) ou 6,7-11,1 fL (Harvey, 2001) com uma média de 6 a 9fL (Willard & Tvedten, 2004).

O VPM em «Beagles» esta descrito em 8,5 (+0,53) fL, mas os valores de referência variam muito entre analisadores (Feldman et.al., 2000).

1.1.1.4. Resumo

Em seguida, a título de resumo, apresenta-se tabela comparativa das características hematológicas obtidas em diferentes estudos realizados noutras raças de cães.

Quadro 1 - Características hematológicas em diferentes raças de cães

Parâmetro	Características
Contagem Global de Eritrócitos	VALORES < 5.5 e 8.5 x10⁶/µL • Animais muito jovens, após desmame (Cowel et.al., 1999) • Caniche «Toy» e Caniche Anão (Harper et.al., 2003; Willard & Tvedten, 2004)
Hematócrito	VALORES < 35 % • Animais muito jovens (Cowel et.al., 1999) • Final da gestação em cadelas (Feldman et.al., 2000) VALORES ENTRE 35 e 40% • São Bernardo (Willard & Tvedten, 2004) VALORES ENTRE 50 E 55% • Caniche, Pastor Alemão, «Boxer», «Beagle», «Dachshunds» e «Chihuahua» (Harper et.al., 2003; Willard & Tvedten, 2004) VALORES > 55% • «Greyhound», Galgo Afegão, «Saluki», «Whippet» e «Belgian Tervuren» (Clark & Parry, 1997; Cowel et.al., 1999; Greenfield et.al., 2000; Steiss et.al., 2000) • Cães de caça/trabalho e cães que vivam em locais de alta altitude (Willard & Tvedten, 2004)
Hemoglobina	VALORES < 12 g/dL • Animais muito jovens (Cowel et.al., 1999) VALORES > 18 g/dL • «Greyhound», Galgo Afegão, «Saluki», «Whippet» e «Belgian Tervuren» (Clark & Parry, 1997; Cowel et.al., 1999; Greenfield et.al., 2000; Steiss et.al., 2000)
VCM	VALORES ENTRE 55 E 65 fL • «Akita Japonês» e «Shiba Japonês» (Day, et.al., 2000; Feldman et.al., 2000; Greenfield et.al., 2000) VALORES ENTRE 84,5 E 106,7fL • Caniche «Toy» e Caniche Anão (Feldman et.al., 2000)
Leucócitos	VALORES > 17 000 /µL • Perto do Parto (Feldman et.al., 2000) • Cães submetidos a um exercício físico intenso (Davis & Davis, 2008)

Parâmetro	Características
	VALORES < 6.000 /μL «Greyhounds» (Steiss et.al., 2000), «Belgian Tervuren» (Greenfield et.al., 2000)
Neutrófilos	VALORES < 3.000/μL «Collie» de cor cinza (Feldman et.al., 2000); «Belgian Tervuren» (Greenfield et.al., 2000)
Linfócitos	VALORES ENTRE 2.000 E 10.000/μL - Animais com menos de 6 meses (Cowel et.al., 1999; Feldman et.al., 2000) VALORES < 1.000/μL «Belgian Tervuren» (Greenfield et.al., 2000)
Monócitos	VALORES < 150/μL «Belgian Tervuren» (Greenfield et.al., 2000)
Eosinófilos	VALORES > 1.250 /μL Pastor Alemão (Day et.al., 2000)
Plaquetas	VALORES < 200.000 /μL «Cavalier King Charles»; «Otterhound», «Foxhounds» e «Scottish Terrier» (Harvey, 2001; Day et.al., 2000; Willard & Tvedten, 2004) «Greyhounds» (Feldman et.al., 2000)
VPM	VALORES > 9 FL «Cavalier King Charles»; «Otterhound», «Foxhounds» e «Scottish Terrier» (Harvey, 2001; Day et.al., 2000; Willard & Tvedten, 2004)

1.1.2. Exame do esfregaço sanguíneo

A avaliação de esfregaço sanguíneo é parte importante e complementar na avaliação do hemograma.

Embora o diagnóstico específico possa ser sugerido com base em resultados obtidos por métodos automáticos, muitas doenças têm uma contagem celular normal com morfologia celular anormal.

Várias informações podem ser obtidas através de um exame de esfregaço sanguíneo de boa qualidade e correctamente corado, tais como: tamanho, morfologia e cor dos eritrócitos; presença de auto-aglutinação; número aproximado e morfologia de leucócitos e plaquetas; presença de eritroblastos; presença de células neoplásicas, agentes infecciosos ou parasitas intra e/ou extra celulares (Nelson & Couto, 2006).

Um esfregaço de sangue deve ser feito com lamela porque resulta numa distribuição mais uniforme dos leucócitos e menor trauma para os diferentes componentes celulares. Um esfregaço deve ser efectuado logo após colheita e secar ao ar antes de corado (Cowel et.al., 1999).

Esfregaços sanguíneos devem ser corados com corantes «Romanowsky» como o «Giemsa». Estes corantes são formados por mistura de eosina e azul-de-metileno. O azul-de-metileno cora os componentes celulares acídicos como o núcleo e o RNA citoplasmático. A eosina é encarnada e cora os componentes básicos como a hemoglobina (Day et.al., 2000).

Esfregaços devem primeiro ser observados com uma objectiva de baixa ampliação para estimar a contagem total de leucócitos e presença de aglutinação eritrocitária, leucocitária e plaquetária, microfilárias e células anormais. Esta avaliação deve ser feita no campo do microscópio monocamada, onde os eritrócitos se encontram numa camada única, e 50% das células estão lado a lado (Day et.al., 2000; Harvey, 2001).

1.1.2.1. Avaliação da Morfologia Eritrocitária

Eritrócitos caninos, têm normalmente 7µm de diâmetro, são bicôncavos e apresentam palidez central que ocupa um terço do diâmetro celular (Cowel et.al., 1999; Feldman et.al., 2000).

A morfologia eritrocitária deve ser avaliada na “cauda” do esfregaço, zona da monocamada eritrocitária, onde a distorção artefactual influencia menos a aparência celular. Alterações morfológicas podem ser detectadas com uma objectiva de 40X (Harvey, 2001).

A morfologia dos eritrócitos deve ser avaliada e deve ser verificada a presença de equinócitos, acantócitos, esquisócitos, ou queratócitos entre outros. Outras alterações morfológicas como: grau de policromasia - alteração de cor; anisocitose, - alteração do tamanho e; de poiquilocitose - alterações na forma, devem ser verificadas. (Cowel et.al., 1999; Harvey, 2001).

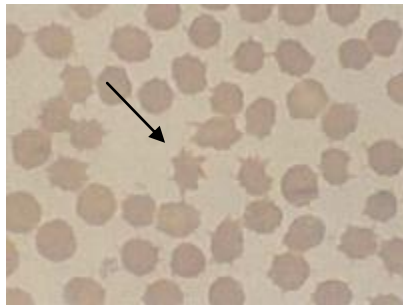


Figura 7 – Acantócitos num esfregaço sanguíneo de cão com patologia hepática coloração Wright-Giemsa (Cowel et.al., 1999)

Cães saudáveis podem apresentar, fisiologicamente na circulação periférica, ligeira anisocitose e policromasia eritrocitárias. O mesmo acontece em animais até as 4 semanas de idade, que por estarem a alterar a população eritrocitária, podem ter maior incidência de anisocitose, policromasia e eritrócitos nucleados denominados metarrubríctos, quando comparados com animais adultos (Cowel et.al., 1999; Feldman et.al., 2000).

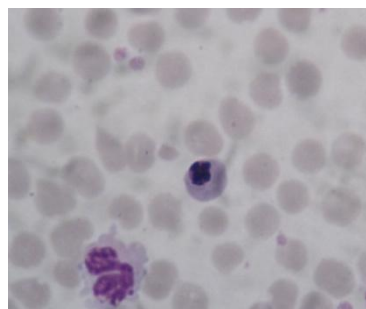


Figura 8 – Monócito e um Eritrócito nucleado - metarrubríctico num esfregaço sanguíneo de cão coloração Wright-Giemsa – Ampliação 400x (Foto Original)

Em animais com anemia, a avaliação do esfregaço é essencial para ajudar a avaliar a causa, tratamento e prognóstico.

Deve ser feita uma avaliação sequencial da morfologia eritrocitária, de variações da anisocitose e policromasia e existência de eritrócitos imaturos. Por exemplo, elevado número de eritrócitos imaturos sem aumento no hematócrito pode ser sugestivo de hemorragia activa ou hemólise. Contagem de plaquetas diminuída com presença de

macroplaquetas sugere consumo ou destruição plaquetária secundária a hemorragia ou hemólise imunomediada. A presença de policromasia, é indicativa de regeneração (Cowell et.al., 1999).

Fragmentação nuclear ou remoção incompleta dos núcleos dos metarrubríctos resultam na retenção de material nuclear pequeno remanescente chamados corpúsculos de «Howell-Jolly». O corpúsculo de «Howell-Jolly» é removido do reticulócito quando este passa no baço e muitas vezes é encontrado em indivíduos esplenectomizados ou quando a função hematosplênica está comprometida (Lopes et.al., 2007).

Fisiologicamente podem ser encontrados até dez eritrócitos com cristais de hemoglobina por esfregaço em cães saudáveis com menos de 3 meses de idade. Cristais de hemoglobina são estruturas quadradas a rectangulares que coram da mesma cor ou ligeiramente mais escura que a hemoglobina e normalmente deformam o eritrócito que os contém (Feldman et.al., 2000).

1.1.2.2. Avaliação da Morfologia Leucocitária

Como medida de qualidade, o número de leucócitos deve ser estimado para assegurar que o número presente no esfregaço é consistente com o número total de leucócitos calculado automaticamente. Com ampliação de 100X, o número total de leucócitos no sangue, em células/ μ L, pode ser estimado e pode ser determinado o número médio de leucócitos presente por campo multiplicando por 100-150 (Harvey, 2001).

A contagem diferencial de leucócitos identifica 200 leucócitos sucessivos e utiliza ampliação de 400X. Como os neutrófilos tendem a agregar nas margens e os linfócitos no corpo do esfregaço, as contagens diferenciais devem ser feitas mediante um padrão de observação que avalie tanto as margens como o centro do esfregaço (Harvey, 2001).

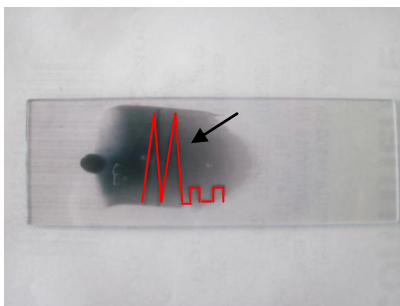


Figura 9- Esquema do Padrão de Observação do Esfregaço Sanguíneo (Fotografia original)

Após a contagem, a porcentagem de cada tipo de leucócito presente é calculada e multiplicada pelo número total de leucócitos de forma a obter o número absoluto de cada tipo de célula por microlitro de sangue (Day et.al., 2000).

Células atípicas e imaturas no sangue periférico, ou aumento persistente e inexplicado de determinado tipo celular são sugestivos de patologia concomitante (Cowel et.al., 1999).

Neutrófilos

O núcleo dos neutrófilos segmentados, maduros, é normalmente alongado e separado em múltiplos lóbulos por invaginações da membrana nuclear. A cromatina está organizada em áreas densas de heterocromatina que variam de roxo escuro a preto, separadas por áreas mais claras e menos densas de eucromatina. O citoplasma é claro de tonalidade basofílica pálida com textura granular fina, pode conter raramente 1 a 2 vacúolos (Feldman et.al., 2000).

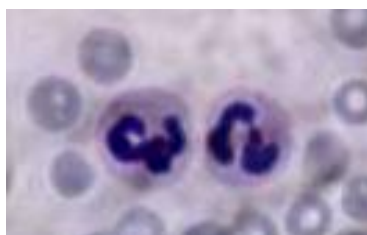


Figura 10 – Neutrófilo canino coloração *Wright-Giemsa* – Ampliação 400x (Fotografia original)

Neutrófilos não segmentados podem ocorrer em pequenas quantidades no sangue periférico e têm núcleo alongado em forma de U ou J com menor condensação de cromatina que os neutrófilos maduros. Os lóbulos nucleares estão normalmente ausentes ou fracamente definidos. O citoplasma é semelhante ao dos neutrófilos segmentados (Cowel et.al., 1999).



Figura 11 - Neutrófilo canino não segmentado com núcleo em forma de bastonete coloração *Wright-Giemsa*– Ampliação 400x (Fotografia Original)

Neutrófilos segmentados são os leucócitos mais frequentes nos cães, bem como o estado de maturação da linha neutrofílica encontrada em condições normais, no sangue periférico (Rebar, 2003).

A presença de neutrófilos imaturos, não segmentados, no sangue, acima do número considerado normal, constitui o que normalmente se designa por desvio à esquerda. Este pode ser caracterizado como regenerativo quando a proporção dos neutrófilos imaturos, ou não segmentados, não excede o de neutrófilos maduros ou degenerativo quando o número de neutrófilos imaturos excede o número de neutrófilos segmentados, ou maduros (Cowel et.al., 1999; Nelson & Couto, 2006).

O aumento na libertação de neutrófilos imaturos, ou bastonetes, para a circulação é clinicamente relevante e ocorre frequentemente associado a processos agudos. Estes podem ser: inflamatórios causados por agentes infecciosos, como bactérias e fungos ou não infecciosos tais como doenças imunomediadas ou neoplasias (Harvey, 2001).

O desvio à direita ocorre quando há aumento na concentração de neutrófilos hipersegmentados, com 5 ou mais segmentos, no sangue periférico que pode ser observado em situações de neutrofilia associada a inflamação crónica ou aumento de esteróides endógenos ou exógenos (Nelson & Couto, 2006; Harvey, 2001).

A libertação endógena ou administração exógena de corticosteróides resulta em neutrofilia induzida por stress. Outras alterações hematológicas típicas de um leucograma de stress em cães incluem linfopenia, eosinopenia e monocitose (Willard & Tvedten, 2004).

Podem ainda ser observados sinais de citotoxicidade nos neutrófilos, quando toxinas circulantes interferem com a diferenciação neutrofílica na medula óssea. Indicam inflamação sistémica com efeito na medula óssea. Causas mais severas encontram-se em animais com sépsis, endotoxemia e necrose tecidual. Podem ainda ocorrer sinais de citotoxicidade quando o tempo de produção dos neutrófilos é muito curto, como resultado de maturação incompleta, em vez de degeneração propriamente dita (Cowel et.al., 1999).

Sinais de toxicidade celular dos neutrófilos consistem em alterações do tamanho, da forma nuclear e dos conteúdos citoplasmáticos. Assim, os neutrófilos tóxicos têm normalmente uma ou mais das seguintes alterações: corpos de «Döhle»; vacuolização ou basofilia do citoplasma; granulação tóxica; formas gigantes; núcleos em anel ou «donut» e núcleo hialinizado (Rebar, 2003; Harvey, 2001).



Figura 12 - Neutrófilo canino núcleo em anel ou «donut», coloração *Wright-Giemsa* – Ampliação 400x (Fotografia Original)

Corpos de «Döhle» são agregações aberrantes de retículo endoplasmático no citoplasma do neutrófilo. A sua causa está normalmente associada a inflamação sistêmica moderada. A basofilia e vacuolização do citoplasma são alterações indicativas de presença de inflamação sistêmica severa e ocorrem em resultado da formação anormal de lisossomas e libertação intracelular das enzimas. A granulação tóxica é um achado pouco comum, que ocorre em alterações aberrantes da granulopoiese. Formas gigantes de neutrófilos, são atribuídas, a falhas nas divisões mitóticas nas células precursoras. Neutrófilos com núcleo em «donut» ou anel representam citotoxicidade sistêmica extrema normalmente associada a sépsis (Cowel et.al., 1999).

Linfócitos

Linfócitos são leucócitos cujo núcleo é muito denso, circular e excêntrico. O citoplasma é pouco abundante podendo conter raros grãos azurófilos inespecíficos (Feldman et.al., 2000; Harvey, 2001).

Os linfócitos têm um tamanho variável, sendo maioritariamente de tamanho mais pequeno. Os maiores podem ter tamanho idêntico ao de neutrófilos e apresentam normalmente, citoplasma mais abundante e cromatina nuclear menos densa que os mais pequenos (Cowel et.al., 1999; Feldman et.al., 2000).

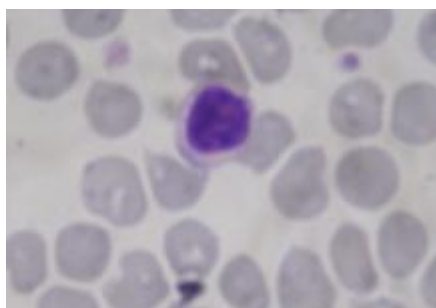


Figura 13 - Linfócito canino com cromatina nuclear densa e citoplasma pouco abundante coloração *Wright-Giemsa*– Ampliação 1000x (Fotografia original)

Linfócitos podem ter alterações morfológicas típicas que os leva a serem designados de linfócitos reactivos ou com transformação blástica, surgindo normalmente após estimulação antigénica.

São células com morfologia variável, tamanho aumentado de 15 -20 μ , núcleo grande com cromatina reticulada. Podem ainda ser observados: nucléolos; citoplasma abundante variando de cor pálida a azul muito escura e zona perinuclear mais clara correspondente ao aparelho de Golgi. Os linfócitos reactivos, não sendo um achado anormal, são pouco específicos, podem ser encontrados após vacinação ou ter causas infecciosas, como ehrlichiose canina, ou causas neoplásicas como leucemias linfoblástica (Cowel et.al., 1999; Feldman et.al., 2000; Harvey, 2001; Rebar, 2003).

Monócitos

Monócitos são a maior das células sanguíneas, com um tamanho entre 15 – 20 até 50 μ m. Apresentam núcleo de diferentes formas, quantidade variável de citoplasma de cor azul acinzentado com grânulos azurófilos e, muitas vezes, vacúolos citoplasmáticos de diferentes tamanhos (Feldman et.al., 2000; Harvey, 2001).

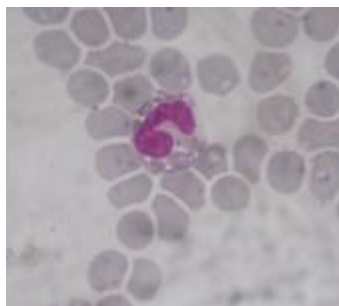


Figura 14 - Monócito canino com vacuolos citoplasmáticos, coloração *Wright-Giemsa* – Ampliação 400x (Fotografia original)

Os monócitos no cão têm normalmente núcleo em forma de banda e podem ser morfológicamente confundidos com neutrófilos imaturos. Quando esta situação ocorre o citoplasma dos neutrófilos maduros deve ser observado e, caso não se verifique sinais de toxicidade, as células com núcleo em forma de banda e com citoplasma azul acinzentado devem ser classificadas como monócitos (Harvey, 2001).

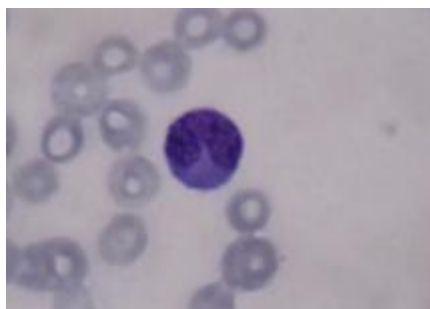


Figura 15 – Monócito canino com núcleo em forma de banda e citoplasma basófilico coloração Wright-Giemsa – Ampliação 1000x (Fotografia original)

Eosinófilos

São assim denominados devido aos grânulos citoplasmáticos que têm grande afinidade para a eosina, e coram de vermelho nos esfregaços de sangue. São células ligeiramente maiores que os neutrófilos (Harvey, 2001; Rebar, 2003).

No cão, esta granulação eosinofílica é característica, e apresenta na maioria dos casos diferentes tamanhos. Ocasional e fisiologicamente os eosinófilos de cão podem apresentar único grânulo que pode ser confundido com inclusão citoplasmática típica ou parasitária (Cowel et.al., 1999; Feldman et.al., 2000). Outra característica dos eosinófilos do cão é o núcleo bilobado (Harvey, 2001).

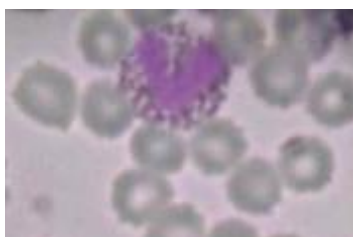


Figura 16 – Eosinófilo de um cão com diversos grânulos e alguns vacuolos citoplasmáticos coloração Wright-Giemsa– Ampliação 400x (Fotografia original)

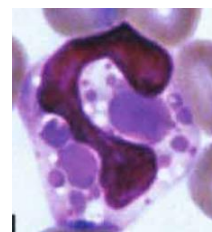


Figura 17 - Eosinófilo de um cão com dois grandes grânulos citoplasmáticos coloração Wright-Giemsa (Harvey, 2001)

Na maioria das raças, poucos eosinófilos apresentam vacúolos citoplasmáticos. Nos «Greyhounds» e, ocasionalmente, noutras raças é comum encontrar eosinófilos com múltiplos vacúolos e poucos ou nenhuns grânulos eosinofílicos. Estes podem ser confundidos com neutrófilos vacuolizados (Feldman et.al., 2000; Harvey, 2001). A explicação reside no facto dos eosinófilos dos «Greyhounds» desgranularem durante a coloração e, por isso, aparecerem vacuolizados nos esfregaços (Cowel et.al., 1999). Os

eosinófilos dos cachorros «Greyhounds» contêm ainda grânulos de cor acinzentado, e não alaranjado, como nas outras raças (Feldman et.al., 2000).

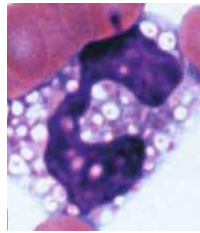
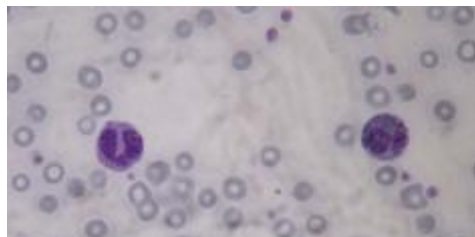


Figura 18 – Eosinófilo de cão «Greyhound» com vários vacúolos citoplasmáticos coloração *Wright-Giemsa* (Harvey, 2001)

Basófilos

Basófilos são os maiores granulócitos, células raras na medula óssea e sangue periférico. Apresentam citoplasma azul pálido e núcleo basofílico lobulado normalmente menos segmentado que o dos neutrófilos. Os grânulos citoplasmáticos são ácidos e têm por isso afinidade para corarem de azul nos esfregaços de sangue (Cowel et.al., 1999; Harvey, 2001).



**Figura 19 – Monócito e Basófilo no sangue de cão coloração *Wright-Giemsa*– Ampliação 400x
(Fotografia original)**

1.1.2.3. Avaliação da Morfologia Plaquetária

Plaquetas apresentam morfologia oval a redonda em esfregaços de sangue periférico. O citoplasma cinzento claro contém grânulos eosinofílicos. As plaquetas variam em tamanho, normalmente um quarto a dois terços do tamanho de um eritrócito, mas algumas podem ser do tamanho de um eritrócito. As plaquetas activadas têm aparência indentada com projecções citoplasmáticas (Cowel et.al., 1999; Feldman et.al., 2000).

Por vezes, nas contagens automáticas, aparece uma trombocitopénia que pode ser devida a uma aglutinação ou agregação das plaquetas. Este facto pode ser confirmado no esfregaço de sangue sendo denominado de pseudo-tombocitopénia (Feldman et.al., 2000).

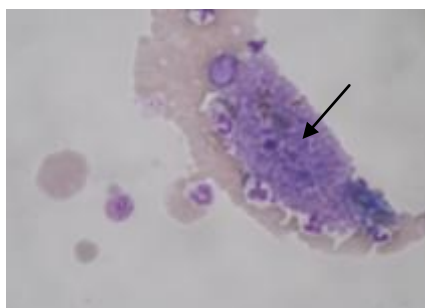


Figura 20 – Plaquetas agregadas no sangue de cão coloração Wright-Giemsa– Ampliação 100x (Fotografia original)

A contagem plaquetária deve ser estimada como: diminuída; normal ou aumentada. Normalmente o número de plaquetas por campo com ampliação de 1000X varia entre 10 e 30. Contagens plaquetárias podem ser estimadas multiplicando o número médio por campo por 15.000 a 20.000 para obter o número aproximado de plaquetas/ μ L de sangue (Harvey, 2001; Cowel et.al., 1999).

1.1.2.4. Agentes infecciosos e Inclusões

Os esfregaços sanguíneos devem ainda ser avaliados para verificar a presença de agentes infecciosos e inclusões intracelulares com ampliação de 1000X. Podem ser encontrados corpos de «Howell-Jolly», corpos de «Heinz», microfíliarias, inclusões de esgana, corpos de «Döhle», *Babesia* spp, *Ehrlichia* spp, *Trypanossoma* spp, *Borrelia* spp e *Leishmanias* (Harvey, 2001).



Figura 21 – Microfilaria no esfregaço de sangue periférico de um cão, coloração Wright-Giemsa– Ampliação 100x (Fotografia original)

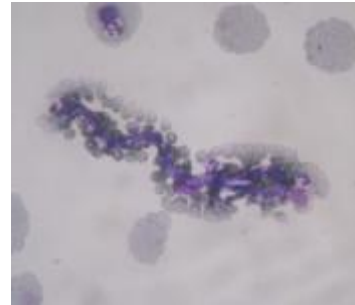


Figura 22 - Microfilaria no esfregaço de sangue periférico de um cão, coloração Wright-Giemsa – Ampliação 100x (Fotografia original)



Figura 23 – Formas de *Babesia canis* em eritrócitos caninos coloração Wright-Giemsa – (Harvey, 2001)

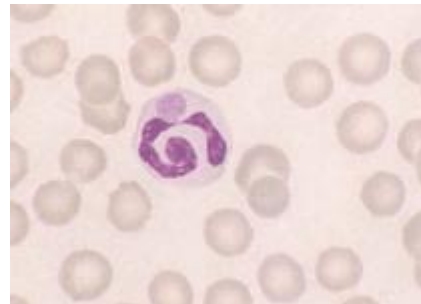


Figura 24 – Mórula de *Ehrlichia ewingii* no citoplasma de um neutrófilo de cão coloração Wright-Giemsa– Ampliação 1000x (Cowel et.al., 1999)

1.2. O Cão Serra da Estrela

O Cão Serra da Estrela, originário da cadeia montanhosa que lhe dá o nome é raça nacional mais popular com 556, 497 e 541 registos no Clube Português de Canicultura em 2006, 2007 e 2008 respectivamente. Está desde 1999 entre as 8 raças mais registadas em Portugal, e tem desde 2006, número maior de registos que o *Boxer* (CPC, 1996-2009).



Figura 25 – Cadela Serra da Estrela de 7 meses (Fotografia original)

O cão Serra da Estrela, das mais velhas raças caninas da Península Ibérica, é de origem desconhecida.

Admite-se que, no tempo dos Visigodos, foram lentamente introduzidos, em várias partes da Europa, cães de grande porte, oriundos do planalto asiático. Os cães eram utilizados, fundamentalmente, em zonas montanhosas a acompanhar pastores e rebanhos nas migrações anuais, para enfrentar lobos e assaltantes.

Em pequena escala, foram também utilizados como cão de tracção e reboque de carroças carregadas com leite e queijo para vender nas feiras. A Serra da Estrela, pelo isolamento e dificuldade de acesso, tornou-se solar desta raça canina.



Figura 26 – Cão Serra da Estrela de 5 anos (Fotografia original)

A raça compreende duas variedades: na região da Covilhã a Castelo Branco eram mais frequentes os cães de Pêlo Comprido, enquanto na zona de Manteigas os de Pêlo Curto eram mais comuns (Vasconcelos, 1995).



Figura 27 – Cão Serra da Estrela de 3 anos (Fotografia original)

No século XIX, a abertura de vias ferroviárias e rodoviárias na Serra da Estrela levou à popularização desta raça, nomeadamente a variedade de Pêlo Comprido, mais vistosa e conhecida.

É utilizada, actualmente, como animal de companhia e guarda de propriedades. Os cães de Pêlo Curto foram mantidos, essencialmente, na guarda de rebanhos e propriedades, tornaram-se cada vez mais raros à medida que os de Pêlo comprido ganharam popularidade (Cruz C. , 2007).

Actualmente, é a raça canina portuguesa com maior efectivo populacional, bem difundida, quer em Portugal quer noutros países como: Reino Unido; Holanda; Bélgica; França; Suécia; Noruega; Finlândia; Brasil; e Estados Unidos da América, onde existem vários núcleos de criação e inclusive clubes de raça. Em Portugal, é também utilizada nas forças militares, nomeadamente no Corpo de Fuzileiros (Cruz C. , 2007).



Figura 28 – Cão Serra da Estrela de 2 meses (Fotografia original)

De aspecto geral o Cão Serra da Estrela é grande, rústico, bem entroncado, com viveza de andamentos e imponente de atitudes. Olhar vivo, calmo e expressivo.

Relativamente ao comportamento tem como característica ser inseparável companheiro do pastor e guarda fiel do rebanho que, com valentia, defende contra predadores e ladrões de gado. É magnífico guarda de quintas e habitações, dissuasor para estranhos e de docilidade característica junto ao dono.

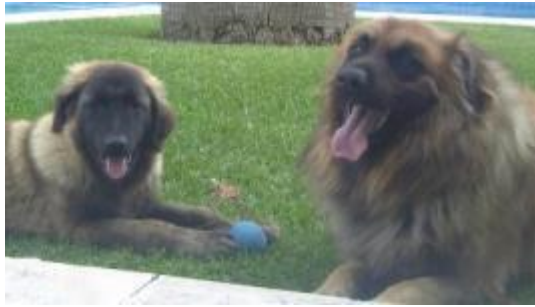


Figura 29 – Cães Serra da Estrela (Fotografia original)

1.2.1. Estudos realizados no Cão Serra da Estrela

O Cão Serra da Estrela, talvez pela sua popularidade, encontra-se já estudado a nível da prevalência de determinadas doenças com base genética como a displasia da anca e cardiomiopatia dilatada e, em relação, à variabilidade genética da raça e respectivas características biométricas.

Está referida (Lobo & Pereira, 2002) a predisposição racial do Cão Serra da Estrela para a Cardiomiopatia Dilatada. Um estudo recente, que utilizou 74 cães desta raça, revelou a influência do peso, idade e sexo nos diferentes parâmetros ecocardiográficos, e contribuiu para determinar os seus valores de referência (Lobo, Canada, Bussadori, Gomes, & Carvalheira, 2008).

Relativamente à displasia da anca, um estudo Português (Ginja, 2006) em 313 animais da raça Cão da Serra da Estrela, utilizando a projecção ventrodorsal padrão e a classificação de acordo com as normas da Federação Cinológica Internacional, revelou incidência de 66% de displasia de grau C (ligeira), D (Moderada) e E (grave).

Relativamente à manutenção do efectivo das raças a médio e longo prazo (Gomes, 2003) avaliou a evolução demográfica das raças caninas autóctones desde a criação dos livros de registo por parte do Clube Português de Canicultura até 2001 e, com base nos critérios da FAO «Food and Agriculture Organization», concluiu que o Cão Serra da Estrela de Pêlo Curto está em estado crítico de extinção e o Cão Serra da Estrela de Pêlo Comprido em estado vulnerável, conjuntamente com o Rafeiro do Alentejo e Cão de Fila de São Miguel.

Apesar dos poucos indivíduos existentes, uma investigação (Petrucci-Fonseca, et al., 2000) efectuou análise genética a 30 indivíduos da raça Cão Serra da Estrela e concluiu que não se verifica até ao momento consanguinidade nem a nível individual nem a nível global.

Outro estudo (Asch, Pereira, Santa-Rita, Lima, & Amorim, 2005) que pretendeu investigar as origens do cão doméstico através da diversidade do DNA mitocondrial em quatro raças autóctones de cães (Cão de Castro Laboreiro, Cão da Serra de Aires, Cão de Fila de São Miguel e Cão da Serra da Estrela) concluiu que o Cão Serra da Estrela é a raça que apresenta maior diversidade genética.

De forma a comparar as relações existentes entre as populações nacionais, das varias raças e variedades, de cães de gado e de pastoreio com base na: morfologia; funcionalidade; descrito nos estalões / protótipos raciais e dados biométricos (Cruz, Ribeiro, Rosa, & Petrucci-Fonseca) observou uma distância de agrupamento entre as variedades de Pêlo Curto e de Pêlo Comprido. A distância de agrupamento entre estas variedades é

superior à que se verificou entre algumas raças diferentes, não se verificando a homogeneidade que um estalão único de raça pressupõe.

Relativamente aos aspectos biométricos do Cão Serra da Estrela, em Portugal, na variedade de Pêlo Comprido e Pêlo Curto, em ambos os sexos (Cruz C. , 2007) verificou que, com excepção da altura diferente para machos e fêmeas tal como descrito no estalão de raça, não existem diferenças significativas ao nível de caracteres biométricos entre indivíduos de géneros diferentes.

1.3. Justificação e Objectivo

Dada a inexistência de dados hematológicos específicos do Cão Serra da Estrela e sendo esta a raça nacional com maior número de registos de indivíduos no CPC torna-se importante, sob o ponto de vista epidemiológico e clínico, conhecer os seus valores fisiológicos.

Os objectivos da presente dissertação, para além de rever a bibliografia relativa ao hemograma no cão saudável foram contribuir para a caracterização do hemograma no Cão Serra da Estrela, variedade de Pêlo Comprido propondo um intervalo de valores de referência para cada um dos parâmetros hematológicos analisados.

2. Materiais e Métodos

2.1. População

Foram utilizados 37 canídeos, inteiros, da raça Cão Serra da Estrela, 27 fêmeas e 11 machos, de 4 proprietários diferentes, localizados em Portugal na região de Lisboa. A idade dos animais variou de 7 meses a 11 anos, sendo a média de idade de 3 anos.

Dos quatro proprietários, os três seguintes são criadores com afixo registado no Clube Português de Canicultura, CPC: Canil Casa do Oeste, em Maфра; Canil Casa de Lôas, em Caneças; Canil Casa das Thuyas, em Maфра. O outro proprietário não é criador nem tem afixo.

Todos os cães analisados estavam registados quer no Livro de Origens Português, LOP, como também no CPC e identificados por microchip. Estes elementos foram preenchidos, para cada animal, na ficha constante no Apêndice I.

Só foram considerados, para efeito do estudo, animais saudáveis nos últimos 6 meses. De forma a garantir que os animais se encontravam saudáveis foi realizado, no momento imediatamente anterior à colheita de sangue, um exame físico geral a cada animal e preenchida a ficha de exame que se encontra no Apêndice I. Todos os cães estavam vacinados contra as principais doenças infecciosas, e desparasitados interna e externamente há menos de 6 meses.

No caso das fêmeas tanto o cio como o último parto tinha ocorrido há mais de 3 meses.

A alimentação de todos os animais era semelhante, constituída por ração seca comercial, no regime de alimentação 1 vez por dia, entre as 18 e 20h, com água sempre à disposição.

2.2. Colheita de Sangue

A colheita de sangue foi efectuada no período compreendido entre Janeiro e Março de 2010.

Os animais tiveram que respeitar um jejum de 8-10 horas e o sangue foi colhido assepticamente da veia cefálica, utilizando uma seringa de 5ml e agulha de 20G.

Imediatamente após colheita, após retirar a agulha, o sangue foi transferido para um tubo contendo K3EDTA «IDEXX Vet Collect 1ml Veterinary Blood Collection Tube K3EDTA®» sendo os tubos invertidos cerca de 20 vezes de forma a homogeneizar o sangue com o anticoagulante.

As amostras foram acondicionadas no frio, a aproximadamente 4°C, e processadas até 8 horas após a colheita.

Antes da análise foi confirmada a inexistência de coágulos, que caso presentes justificavam a exclusão da amostra do estudo.

2.3. Determinações Hematológicas

Foram analisados os seguintes parâmetros: contagem global de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM, contagem global de leucócitos, neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos, plaquetas e VPM.

Os resultados individuais obtidos encontram-se no Anexo III.

As análises foram realizadas no analisador automático «IDEXX Lasercyte Hematology Analyzer®» no laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Este aparelho utiliza uma técnica de citometria de fluxo conforme descrito no capítulo anterior.



Figura 30 - «IDEXX Lasercyte Hematology Analyzer®»

2.4. Exame do esfregaço sanguíneo

Foi efectuado um esfregaço de sangue para cada amostra. Para tal foi colocada lâmina em superfície horizontal e pequena gota de sangue aplicada na extremidade. Colocada lamela com ângulo de 30° a 45° em frente à gota de sangue aguardou-se até o sangue se espalhar por capilaridade. Em seguida, empurrou-se com movimento uniforme, a lâmina e a lamela em contacto de modo a formar uma área franjada na parte final do esfregaço. O esfregaço foi seco ao ar e identificado, escrevendo-se o número da amostra no próprio esfregaço a lápis.

A lâmina foi posteriormente fixada com metanol e corada com Wright-Giemsa «Giemsa Stain Modified Solution – Fluka Lote 136411522108022®» e seca ao ar de acordo com o protocolo standard.

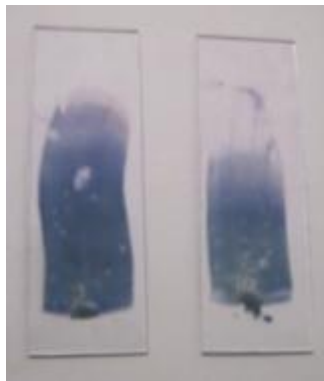


Figura 31 – Laminas nº9 e nº10 coloração Wright-Giemsa (*Fotografia original*)

Para observação dos esfregaços foi utilizado o microscópio «Olympus CX31®» com aumento de 400 vezes. As fotos foram tiradas com máquina «Canon Power Shot D10®».



Figura 32 - Microscópio «Olympus CX31®»

Em todas as amostras todos os tipos celulares, eritrócitos, leucócitos e plaquetas, foram avaliados quanto à sua distribuição, quantidade, características morfológicas e presença de agregados. Na «cauda» do esfregaço foram ainda pesquisadas a presença de microfilárias, células anormais e agregados de plaquetas ou leucócitos.



Figura 33 – Eosinófilo observado num esfregaço de Cão Serra da Estrela coloração Wrigth-Giemsa - ampliação 1000x (Fotografia original)

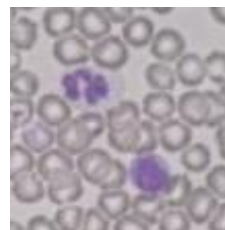


Figura 34 – Neutrófilo e Linfócito observado num esfregaço sanguíneo de Cão Serra da Estrela coloração Wrigth-Giemsa - ampliação 400x (Fotografia original)

Para efeito do leucograma e confirmação dos resultados automáticos obtidos, foi também efectuada, em todos os esfregaços, a contagem manual diferencial de 200 leucócitos.

2.5. Análise estatística

A análise estatística foi efectuada em «Microsoft Office Excel 2007®» e utilizado o programa «Analyze-it®».

Para cada parâmetro hematológico, foi verificada a normalidade através dos testes de Shapiro-Wilk, sendo a distribuição considerada normal quando o valor de p era superior a 0,05. Foi ainda calculada a média e o desvio padrão.

Para determinação dos valores de referência são utilizadas as directrizes propostas pela Federação Internacional de Químicos Clínicos segundo as quais os valores de referência devem ser obtidos de amostras colhidas de animais saudáveis através de procedimentos padronizados para a recolha, manuseamento, análise analítica e estatística dos dados (Feldman, Zinkl, & Jain, 2000). Para determinação do intervalo de referência numa amostra igual ou inferior a 40 indivíduos, são utilizados limites superiores e inferiores observados em 95% dos indivíduos – percentil 2,5 e 97,5 (Lumsden et.al., 1979; Feldman et.al., 2000).

3. Resultados

Das 37 amostras recolhidas duas, de fêmeas, foram excluídas do estudo porque numa amostra foi determinada uma leucocitose de $25 \times 10^6/\mu\text{L}$, noutra uma leucopénia de $2,5 \times 10^6/\mu\text{L}$. Um macho que apresentava hematócrito de 74% teve o eritrograma excluído da análise estatística.

Todos os parâmetros analisados, com excepção da HCM e dos eosinófilos, demonstraram ter uma distribuição normal.

A tabela seguinte expõe uma visão global dos resultados obtidos, em que são reportados os limites mínimos e máximos do intervalo de referência de cada parâmetro, objectivados respectivamente pelos percentis 2,5 e 97,5. É também apresentada a média e o desvio padrão para cada parâmetro estudado, incluindo os valores que ultrapassam o percentil. A título informativo a tabela inclui também os intervalos de referencia, sem ter em conta a eventual especificidade de cada raça, validados pela «IDEXX Lasercyte Hematology Analyzer»[®] para o analisador utilizado.

Quadro 2 - Resultados obtidos para Cão Serra da Estrela (n=33 no eritrograma e n=34 no leucograma)

Parâmetros	Unidades	Intervalo de referência para o Aparelho	Resultados Obtidos				
			Média	Desvio padrão	Percentil 2,5	Percentil 97,5	Shapiro-wilk w p
Contagem Global de Eritrócitos	$10^6/\mu\text{L}$	5,50 - 8,50	6,84	0,66	5,60	8,30	0,85
Hematócrito	%	37,00 – 55,00	55,35	5,43	44,60	67,45	0,80
Hemoglobina	g/dL	12,00 - 18,00	15,70	1,43	12,95	18,87	0,96
VCM	fL	60,00 – 77,00	80,99	2,55	75,50	85,40	0,32
CHM	pg	18,50 – 30,00	23,20	1,80	20,20	29,10	0,004
CHCM	g/dL	30,00 - 37,50	28,37	1,10	26,37	30,37	0,41
Leucócitos	$\text{K}/\mu\text{L}$	5,50 - 16,90	11,37	3,20	5,83	18,56	0,56
Neutrófilos	$\text{K}/\mu\text{L}$	2,00 – 12,00	7,02	2,20	3,10	12,23	0,51
Linfócitos	$\text{K}/\mu\text{L}$	0,50 - 4,90	2,81	1,17	1,12	5,00	0,08
Monócitos	$\text{K}/\mu\text{L}$	0,30 – 2,00	0,86	0,37	0,27	1,90	0,08
Eosinófilos	$\text{K}/\mu\text{L}$	0,10 - 1,49	0,69	0,13	0,13	3,66	0,00
Basófilos	$\text{K}/\mu\text{L}$	0,00 - 0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Plaquetas	$\text{K}/\mu\text{L}$	175,00 – 500,00	155,40	10,06	40,50	290,00	0,27
VPM	fL	-	9,67	0,27	7,50	13,99	0,05
PDW	%	-	16,59	1,16	14,50	19,50	0,12

O intervalo de referência obtido para todos os parâmetros estudados, com excepção da contagem global de eritrócitos e da CHM, não são totalmente coincidentes com

os limites de referência validados para o aparelho utilizado, ultrapassando ou o seu limite inferior ou superior.

Na figura seguinte, apresenta-se a percentagem de Cães Serra da Estrela com valores hematológicos fora do intervalo de referência do analisador. Valores negativos no eixo do x indicam valores abaixo dos de referência e positivos acima dos valores de referência.

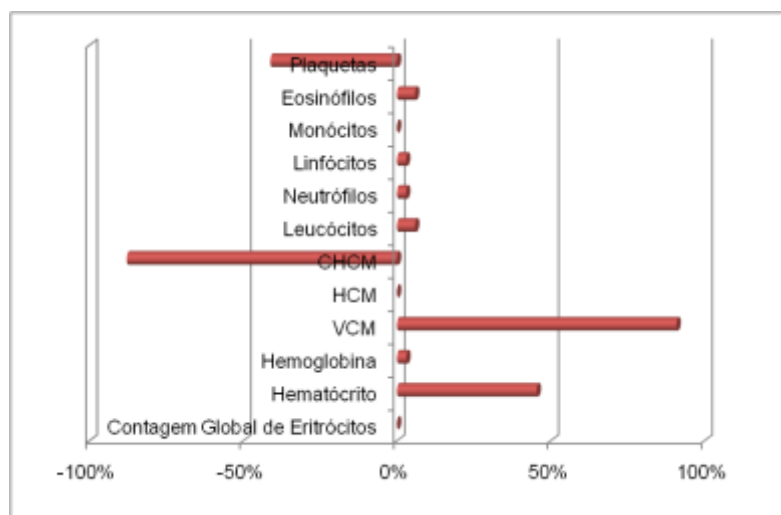


Figura 35 – Percentagem de Cães Serra da Estrela com valores hematológicos fora do intervalo de referência do analisador.

Verifica-se que 45% dos animais estudados, no caso do hematócrito, 90% no caso do VCM e 4% no caso da hemoglobina, encontram-se acima do limite superior do intervalo de referência. Pelo contrário, 88% dos animais no caso da CHCM e 41% para a contagem de plaquetas encontram-se abaixo do limite inferior do intervalo de referência. Verifica-se, ainda, que para 6% dos cães estudados o valor absoluto de leucócitos se encontra acima do limite superior do intervalo de referência com excepção dos monócitos que se encontram abaixo deste limite. De entre os leucócitos os que se encontram mais acima do limite superior do intervalo de referência são os eosinófilos.

Os valores médios, de todos os animais estudados, dos parâmetros hematócrito e VCM encontram-se acima dos valores máximos de referência e os valores médios de CHCM e plaquetas abaixo do valor mínimo de referência validado para o aparelho. A média dos restantes parâmetros encontra-se dentro do intervalo de referência para o analisador.

Todas as células apresentaram morfologia normal, na avaliação manual do esfregaço. Foram observados eritrócitos nucleados, metarrubríctos, em dois animais diferentes, linfócitos reactivos num animal, macroplaquetas num animal e agregação plaquetária em seis animais.

4. Discussão

No conhecimento da autora, este é o primeiro estudo realizado com vista a contribuir para a caracterização do hemograma no Cão da Raça Serra da Estrela, variedade de Pêlo Comprido. Dado que muitos dos dados publicados são obtidos de populações de uma só raça e/ou em condições de laboratório, estes valores podem ser pouco representativos para a população geral. Sendo o Cão da Raça Serra da Estrela a raça nacional com maior número de registos individuais no CPC é importante, sob o ponto de vista epidemiológico e clínico, conhecer os valores fisiológicos dos parâmetros hematológicos, de forma a ajudar a caracterizar e determinar eventuais doenças, constituindo assim uma nova informação no arsenal clínico dos Médicos Veterinários.

Foram utilizados 37 cães neste estudo. O orçamento disponível, a dispersão dos criadores pelo país e o facto de, nos meses de recolha de sangue, a Serra da Estrela encontrar-se coberta de neve e inacessível, além de distante do laboratório, o que induzia a aumento no tempo entre a colheita e o processamento da amostra, impossibilitaram o estudo de uma maior população. Outros autores utilizaram também uma população inferior a 40 animais (Sullivan et al, 1994; Clark & Parry, 1997; Aengwanich et al, 2007). A população de estudo é inferior ao número mínimo necessário para calcular limites inferiores e superiores com intervalo de confiança de 0,90. Deste modo foi utilizado o valor máximo e mínimo em 95% da amostra (intervalos entre o percentil 2,5 e 97,5), segundo directivas da Federação Internacional de Químicos Clínicos (Lumsden et.al., 1979; Feldman et.al., 2000).

A HCM e os eosinófilos não apresentaram uma distribuição Gaussiana, no entanto, quando a população é inferior a 40 indivíduos, o método utilizado para estabelecer os intervalos de referência não exige uma distribuição normal (Feldman et.al., 2000).

Neste trabalho tanto o valor médio como o intervalo de referência calculado relativo à contagem global de eritrócitos foi coincidente com os valores de referência do aparelho de hematologia utilizado. Estes resultados não estão de acordo com estudos, que reportam, variações eventualmente relacionadas com a raça, na contagem global de eritrócitos nomeadamente em “Greyhounds” (Sullivan et al, 1994; Sheiel et al, 2007).

Verifica-se 45% dos animais estudados, no caso do hematócrito e 90% no caso do VCM se encontram acima do limite superior do intervalo de referência do analisador. Estão descritos valores de hematócrito superiores a 50% noutras raças, normalmente acompanhados de aumento de hemoglobina e em cães que vivam em locais de alta altitude (Nelson & Couto, 2006). Embora os cães analisados vivam em locais de baixa altitude, ao nível da altura do mar, a raça tem origem em zonas montanhosas, o que pode justificar uma

eventual base genética para o aumento do hematócrito. Seria interessante, em estudos posteriores, determinar, por exemplo, a concentração basal de eritropoietina nestes animais.

As causas mais frequentes de aumento de hematócrito relacionam-se com policitemia relativa, consequência de: hemoconcentração, devida a contracção esplénica por stress durante a colheita; desidratação; processamento tardio de amostras, responsável pelo aumento da dimensão dos eritrócitos e consequente aumento do VCM e como última causa a influência hormonal, uma vez que os androgénios aumentam a concentração de glóbulos vermelhos e os estrogénios, apresentam efeito inibidor sobre a eritropoiese (Day et.al., 2000; Lopes et.al., 2007).

De forma a descartar as causas supracitadas de aumento de hematócrito a recolha de sangue foi feita no Inverno e nas instalações dos criadores para minimização do stress associado à colheita. Todos os animais tinham acesso livre à água e, no exame físico, não se evidenciaram sinais clínicos compatíveis com desidratação. Para aferir se este aumento de hematócrito é fisiológico ou secundário a desidratação ou stress, outros estudos posteriores podem ser efectuados, tais como, a determinação de proteínas totais ou concentração basal de eritropoietina. Para este efeito o soro dos animais utilizados foi congelado.

Os eritrócitos podem ainda, aumentar de tamanho durante o armazenamento e transporte o que pode induzir a falsos aumentos de VCM e de hematócrito e diminuição da CHCM (Day et.al., 2000; Willard & Tvedten, 2004). Um estudo que avaliou a influência do tempo, temperatura e recipiente nas características do hemograma em cães adultos saudáveis concluiu que a determinação do hemograma após armazenamento a 4°C durante 36 ou 96 horas pode ser realizada sem alteração de nenhum parâmetro hematológico (Coelho, 2006). Neste estudo as amostras foram processadas no máximo até 8 horas após colheita e refrigeradas a 4°C, pelo que não parece ser esta a causa para o aumento do hematócrito observado.

Em 6% dos cães estudados o valor absoluto de leucócitos encontra-se acima do limite superior do intervalo de referência do aparelho. Estão descritas variações significativas na contagem global e diferencial de leucócitos consoante o grupo de animais considerado (Feldman et.al., 2000). Existem diversos factores que contribuem para esta situação, por exemplo, animais que vivem em ambientes não controlados podem ter exposição a uma grande variedade de antígenos com consequente estimulação na produção de leucócitos (Nelson & Couto, 2006). Outras alterações leucocitárias podem ocorrer devido à resposta induzida pela epinefrina ou corticosteróides na colheita, podendo, neste caso, as alterações leucocitárias verificadas relacionar-se com a maior ou menor sensibilidade ao stress por parte do animal. Como já foi referido durante este estudo, todas

as amostras foram recolhidas nas instalações dos criadores para minimização do stress associado à colheita. O stress está associado à libertação endógena de corticosteróides que por sua vez pode conduzir a uma leucocitose com neutrofilia, linfopénia, eosinopénia e monocitose. Contudo, não se observaram alterações deste género nos animais amostrados o que pode confirmar o facto que não houve stress associado à colheita.

Das alterações verificadas de entre os leucócitos os que se encontram mais acima do limite superior do intervalo de referência são os eosinófilos. Está descrito que, ao contrário dos eritrócitos e plaquetas, em algumas estações do ano os animais podem ter maiores contagens eosinofílicas devido à maior presença de alergenios ambientais e parasitas (Feldman et.al., 2000). Todos os animais amostrados vivem no exterior, e estão expostos a alergenios ambientais e eventuais parasitas, o que pode explicar a eosinofilia presente em 6% dos casos. Embora desparasitados, não se pode excluir uma infestação parasitária recente e os animais não foram testados para a presença de agentes infecciosos/parasitários. É importante salientar que cães de raça Pastor Alemão apresentam contagens de eosinófilos acima do valor de referência para outras raças. A causa deste fenómeno é desconhecida e não parece ter importância clínica (Day et.al., 2000). É possível que se verifique a mesma situação para os Cães Serra da Estrela porque ambas são raças com manejo semelhante, habitando frequentemente no exterior.

Não foram observados basófilos na contagem diferencial de leucócitos, o que pode corresponder à fisiologia normal do cão pois são células pouco frequentes no sangue e medula óssea podendo não ser observadas em contagens diferenciais de cães saudáveis (Feldman et.al., 2000).

Neste estudo foram observados metarrubríctos em dois animais diferentes, estas células podem ser encontradas na circulação periférica em casos de anemia regenerativa ou em animais em recuperação de uma anemia (Feldman et.al., 2000). Nenhum animal analisado apresentava eritrócitos, concentração de hemoglobina e/ou hematócrito abaixo dos valores mínimos de referência para o aparelho, logo não parece ser este o caso.

Foram observados linfócitos reactivos num animal, que não sendo um achado anormal, são pouco específicos, surgindo normalmente após estimulação antigénica (Harvey, 2001).

Relativamente à contagem de plaquetas, a trombocitopénia não foi valorizada. A agregação plaquetária verificada na observação dos esfregaços pode justificar a pseudotrombocitopénia verificada.

Relativamente ao VPM, o aparelho não apresenta valores de referência sendo que este varia dependendo dos autores e entre analisadores. O valor médio em cães é de 6,7-11,1 fL (Harvey, 2001) com uma média de 6 a 9fL (Willard & Tvedten, 2004), a média em

Serras da Estrela foi 9,67fL. Aumento do VPM ou a presença de macroplaquetas esta descrito em populações saudáveis de cães outras raças (Willard & Tvedten, 2004). Falsos aumentos do VPM estão associados à exposição ao EDTA quando as plaquetas são mantidas em ambiente refrigerado.

5. Conclusão

Os objectivos deste estudo foram atingidos pois para além da revisão bibliográfica apresentada, foram propostos médias e intervalos de referência, susceptíveis de contribuir para a caracterização dos valores hematológicos no Cão Serra da Estrela, variedade de Pêlo Comprido. Os resultados podem indicar a eventual existência de particularidades, ligadas a raça estudada nomeadamente nos parâmetros hematócrito, VCM, CHCM, número de plaquetas e número de eosinófilos.

No conhecimento da autora, não existem outros estudos hematológicos realizados no Cão Serra da Estrela nem em outras raças portuguesas. Os resultados obtidos sugerem que maior investigação deve ser efectuada tanto no Cão Serra da Estrela como noutras raças autóctones com vista não só a caracterização como para confirmar se as alterações verificadas são características da raça ou devidas a outros factores. Deste modo, estudos mais abrangentes necessitam ser realizados, utilizando amostras maiores e analisando mais parâmetros hematológicos e/ou bioquímicos, tomando em consideração prováveis factores de variabilidade tais como raça, idade, sexo e condições ambientais.

Bibliografia

Aengwanich, W., Daungduen, C., Pamok, S., & Suppasso, D. (2007). Blood Cell Characteristics and some Hematological Values of American Pit-bull Terriers in Thailand. *World Applied Sciences Journal* , pp. 158-162.

Asch, V. B., Pereira, L., Pereira, F., Santa-Rita, P., Lima, M., & Amorim, A. (2005, June 22). MtDNA diversity among four Portuguese autochthonous dog breeds: a fine-scale characterisation. *BMC Genetics* .

Clark, P., & Parry, B. W. (1997). Some haematological values of Irish Wolfhounds in Australia. *Aust Vet J* , 7, 523-524.

Coelho, P. (2006). *Influencia do tempo, temperatura e recipiente de estocagem nas características do hemograma de cães adultos hígidos*. São Paulo: Universidade Estadual Paulista.

Cowel, R. L., Tyler, R. D., & Meinkoth, J. H. (1999). *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (Second ed.). Philadelphia: Mosby.

CPC. (1996-2009). *Registos individuais por raça*. Retrieved Março 2, 2010, from Clube Português de Canicultura: <http://www.cpc.pt/?registos/estatisticas>

Cruz, C. (2007). *As Raças Portuguesas de Cães de Gado e de Pastoreio - Aspectos Morfológicos e Comportamentais*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.

Cruz, C. (2006). Aspectos Biométricos do Cão da Serra da Estrela. *XVI Congresso de Zootecnia "Saber produzir, saber transformar"*. Esc. Sup. Agrária de Castelo Branco.

Cruz, C., Ribeiro, J., Rosa, I., & Petrucci-Fonseca, F. Análise das Relações entre as Raças Portuguesas de Cães de Gado e de Pastoreio com base em protótipos Raciais e em Caracteres Biométricos. *2ª Reunião da Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos em Animais*, (pp. 414-420).

Davis, M., & Davis, W. (2008). Effects of training and strenuous exercise on hematologic values and peripheral blood leukocyte subsets in racing sled dogs. *JAVMA* , 232, 873- 878.

Day, M., Mackin, A., & Littlewood, J. (2000). *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. Gloucester: BSAVA.

Fauci, A., Braunwald, E., Isselbacher, K., Martin, J., Kasper, D., Hauser, S., et al. (1998). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York: McGraw-Hill.

Feldman, B. F., Zinkl, J. G., & Jain, N. C. (2000). *Schalm's veterinary hematology* (5th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Williams.

Frazão, P. (2008). *Alterações Leucocitárias como factor de prognóstico na evolução Clínica na Parvovirose Canina 191 Casos*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.

Ginja, M. (2006). *Estudo imagiológico da displasia da anca na raça Cão da Serra Diagnóstico precoce, lassidão articular passiva, heritabilidade e prevalência*. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

Gomes, M. (2003). *Raças Caninas Autóctones portuguesas - Contributo para o seu estudo genético e demográfico*. Santarem: Escola Superior Agrária de Santarem.

Greenfield, C., Messick, J., Solter, P., & Schaeffer, D. (2000, March 15). Results of hematologic analyses and prevalence of physiologic leukopenia in Belgian Tervuren. *JAVMA* , 866-871.

Harper, J., Hackett, R., Wilkinson, J., & Heaton, P. (2003). Age-related variations in hematologic and plasma biochemical test results in Beagles and Labrador Retrievers. *JAVMA* , 223, 1436-1442.

Harvey, J. W. (2001). *Atlas of Veterinary Hematology Blood and Bone Marrow of Domestic Animals*. Florida: Saunders.

Lee, G. (1994). *Wintrobe's Clinical Hematology*. Baltimore: Williams & Wilkins.

Lobo, L. L., & Pereira, R. (2002). Cardiomiopatia dilatada canina. *RPCV* , 153-159.

Lobo, L., Canada, N., Bussadori, C., Gomes, J., & Carvalheira, J. (2008, Aug). Transthoracic echocardiography in Estrela Mountain Dogs: Reference values for the breed. *Vet J.* , 250-9.

Lopes, S., Biondo, A., & Santos, A. (2007). *Manual de Patologia Clínica Veterinária*. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria - Centro de Ciências Rurais.

Lumsden, J., Mullen, K., & McSherry, B. (1979). Canine hematological and biochemistry reference values. *Canadian Journal of Comparative Medicine* , pp. 125-131.

Nelson, R., & Couto, G. (2006). Leucopénia e Leucocitose. In *Medicina Interna de Pequenos Animais* (3ª ed., pp. 1187-1190). Mosby Elsevier.

Petrucci-Fonseca, F., Pires, A. E., Ribeiro, S., Almendra, L., Clemente, A., Collaço, M. T., et al. (2000). Cães de Gado na Conservação do Lobo em Portugal. *Galemys* , 12.

Rebar, A. (2003). *Interpretacion del Hemograma Canino y Felino*. Wilmington, Delaware: Nestlé Purina PetCare Company.

Sheiel R, Brennan S, O'Rourke L, Mccullough M, Mooney C,(2007) Heamatologic values in young pretraining heathy Greyhounds, *Veternary Clinical Patology*, Vol 36, nº3 pag 274-277.

Steiss, J., Brewer, W., Welles, E., & Wright, J. (2000). Hematologic and Serum Biochemical Reference Values in Retired Greyhounds. *Small Animal / Exotics Compendium* , 22 nº3.

Sullivan P; Evans H., McDonald H., Platelet concentration and Hemoglobin function in Greyhounds, *J AM Med Assoc.* 1994; 205; 838-841

Swanson, K. S., Kuzmuk, K. N., Schook, L. B., & Fahey, G. C. (2004). Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. *J Anim Sci* , 82, 1713-1724.

Vasconcelos, R. C. (1995). *Raças de cães Portuguesas* (2ª ed.). Lisboa: Editorial Presença.

Willard, M., & Tvedten, H. (2004). *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. Elsevier.

Wyatt, K. M., & Wyatt, G. L. (2002). Evaluation of a manual technique for detection of neutropenia and thrombocytopenia in dogs receiving chemotherapy. *JAVMA* , 12, 1805-1806.

APÊNDICES

APENDICE I – FICHA DO ANIMAL

APENDICE II – RESULTADOS DOS HEMOGRAMAS EFECTUADOS

APÊNDICE I – REGISTO INDIVIDUAL

DATA HORA COLHEITA NºAMOSTRA
 Nome do Animal _____ Data de Nascimento _____

Sexo

FI	FC	MI	MC
----	----	----	----

 Nº CHIP _____

Peso _____ Pelagem _____

Nome do dono _____

Morada _____

Telefone _____

Manifestações de Doença

Jejum	Sim	Não	Horas		
Apetite	Sem Ap	Pobre	Moderado	Bom	
Vômito	Nunca	>1 x p sem	<1 x p sem	1 x p dia	
Diarreia	Nunca	>1 x p sem	<1 x p sem	1 x p dia	
Comportamento	Mto Letarg.	Letargico	Atento	Alerta	
Condição Corporal	1	2	3	4	5
Se Fêmea Ultimo Cio/ Gravidez?	Gravidez	Cio	Data		
Tipo de Alimentação?	Ração	Humida	Caseira	Qual	_____
Fez Suplementação?	Sim	Não		Com o quê?	_____
Ultima doença?	>1 ano	6M-1Ano	< 6 Meses	O quê?	_____
Ultima Vacina? Qual?	>3 anos	1-3Anos	< 1 Ano	Qual?	_____
Ultima Desparasitação?	>1 ano	6M-1Ano	< 6 Meses	Com o quê?	_____

EXAME FÍSICO

Movimentos Respiratórios Profundidade Ritmo

Frequência Respiratória RPM Pulso PPM

Frequência Cardíaca BPM Ritmo

Sim	Não
-----	-----

Auscultação Cardíaca

Normal	Anormal
--------	---------

 Sopro _____

Auscultação Respiratória

Normal	Anormal
--------	---------

T°C Rectal °C Pelagem

Brilhante	Baço	Alopecia
-----------	------	----------

Mucosas

Rosada	Palida	Ictérica	Cianótica
--------	--------	----------	-----------

 TRPP segundos

TRC segundos

Linfonodos

Mand	Retrofar	Prescap	Axila	Ing/Mam	Popliteos

Olhos

Normal	Corrimento
--------	------------

 Observações _____

Ouvidos

Limpos	Cerumen
--------	---------

 Observações _____

Sistema Urogenital

Normal	Corrimento
--------	------------

 Observações _____

Outros Achados _____

APÊNDICE II – TABELA DE RESULTADOS

Nº de Análise	Canil	Nome do Animal	Genero	Idade (anos)	Eritrócitos	Htc	Hemoglobina	VCM	HCM	CHCM	Leu	Neu	Linf	Mon	Eos	Bas	% Neut	% Linf	% Mon	% Eos	% Bas	Plaquetas	VPM
Intervalo de Referência					5,5-8,5	37-55	12,0-18,0	60-77	18,5-30	30-37,5	5,5-16,9	2,0-12	0,5-4,9	0,3-2	0,1-1,49	0-0,1						175-500	
1	Costa do Oeste	Luna	Femea	1,0	6,15	50,70	15,20	82,50	24,71	30,00	12,10	6,66	4,60	0,48	0,36	0,00	55,00	38,00	4,00	3,00	0,00	138	8,72
2		Roscas	Macho	0,7	5,51	44,00	12,90	79,80	23,45	29,40	13,70	10,28	1,64	0,69	1,10	0,00	75,00	12,00	5,00	8,00	0,00	184	8,80
3		Canela	Femea	1,6	5,86	47,80	14,00	81,60	29,93	29,30	11,30	7,80	2,26	0,45	0,79	0,00	69,00	20,00	4,00	7,00	0,00	175	9,04
4		Erica	Femea	7,0	6,48	50,00	14,30	77,20	22,04	28,60	12,70	7,11	3,81	1,40	0,38	0,00	56,00	30,00	11,00	3,00	0,00	34	9,82
5		Bolota	Femea	4,0	7,15	54,70	15,60	76,50	21,76	28,40	10,20	4,59	3,47	1,22	0,92	0,00	45,00	34,00	12,00	9,00	0,00	75	11,00
6		Jupiter	Macho	5,0	6,30	51,60	14,90	81,80	23,64	28,90	11,20	7,17	2,13	1,34	0,56	0,00	64,00	19,00	12,00	5,00	0,00	212	8,25
7		Castiça	Femea	4,0	6,38	52,90	14,60	82,90	22,90	27,60	8,30	5,89	1,66	0,50	0,25	0,00	71,00	20,00	6,00	3,00	0,00	170	8,08
8		Chuva	Femea	1,0	6,74	53,40	14,70	79,20	21,87	27,60	12,40	6,70	4,84	0,50	0,37	0,00	54,00	39,00	4,00	3,00	0,00	167	7,52
9		Arwe	Femea	5,0	7,55	58,50	15,80	77,50	20,86	26,90	8,40	5,46	1,60	0,92	0,42	0,00	65,00	19,00	11,00	5,00	0,00	118	9,90
10		Cigana	Femea	2,0	5,96	48,50	13,30	81,30	22,96	27,40	14,90	7,90	4,17	1,94	0,89	0,00	53,00	28,00	13,00	6,00	0,00	228	8,89
11		Astor	Macho	2,0	7,07	57,90	16,60	81,90	23,43	28,60	18,70	9,91	3,18	1,50	4,11	0,00	53,00	17,00	8,00	22,00	0,00	172	7,57
12		Bomboca	Femea	2,0	6,64	53,40	16,00	80,40	24,10	30,00	11,20	7,39	1,57	0,78	1,46	0,00	66,00	14,00	7,00	13,00	0,00	195	8,52
13		Gaja Boa	Femea	6,0	7,82	61,10	16,60	78,00	21,23	27,20	7,40	4,88	1,11	1,04	0,37	0,00	66,00	15,00	14,00	5,00	0,00	186	7,55
14	Casa de Loas	Tomé	Macho	5,0	6,46	54,20	15,40	84,00	23,78	28,30	5,60	3,14	1,18	1,01	0,28	0,00	56,00	21,00	18,00	5,00	0,00	68	11,46
15		Eros	Macho	1,5	7,05	56,50	16,30	80,10	23,04	28,80	6,80	3,40	1,90	0,95	0,54	0,00	50,00	28,00	14,00	8,00	0,00	89	9,66
16		Zara	Femea	1,5	7,79	64,20	17,60	82,40	22,56	27,40	9,40	6,11	2,07	0,85	0,38	0,00	65,00	22,00	9,00	4,00	0,00	149	8,78
17		Cafuza	Femea	0,6	6,84	51,50	13,80	75,30	20,17	26,80	9,60	4,22	4,03	1,15	0,19	0,00	44,00	42,00	12,00	2,00	0,00	186	7,58
18		Linda	Femea	1,0	8,39	67,20	17,70	80,00	21,03	26,30	8,90	5,07	2,76	0,53	0,53	0,00	57,00	31,00	6,00	6,00	0,00	135	8,48
19		Alegria	Femea	1,0	7,53	59,30		78,70	21,03	26,70												96	9,10
20		Max	Macho	8,5	5,93	49,20	13,40	83,10	22,63	27,20	2,10											4	
21	Casa das Thuyas	Barroca	Femea	8,5	7,89	64,90	17,90	82,20	22,74	27,70	25,72	11,57	0,77	0,51	12,86	0,00	45,00	3,00	2,00	50,00	0,00	315	7,34
22		Lobo	Macho	1,0	6,68	54,70	15,10	81,90	22,60	27,60	14,91	8,65	5,07	0,89	0,30	0,00	58,00	34,00	6,00	2,00	0,00	104	14,51
23		Cabaça	Femea	3,0	6,77	57,70	16,80	85,30	24,78	29,00	8,99	6,56	1,26	0,63	0,54	0,00	73,00	14,00	7,00	6,00	0,00	121	10,67
24		Casta	Femea	3,0	6,50	52,70	16,00	81,20	24,67	30,40	17,98	12,59	3,60	1,44	0,36	0,00	70,00	20,00	8,00	2,00	0,00	290	11,78
25		Orquidia	Femea	3,0	6,59	53,30	15,10	80,90	22,88	28,30	10,92	6,22	2,62	0,66	1,42	0,00	57,00	24,00	6,00	13,00	0,00	186	10,02
26		Smach Junior	Macho	3,0	8,77	73,80	20,10	84,10	22,94	27,30	10,06	6,34	2,11	0,80	0,80	0,00	63,00	21,00	8,00	8,00	0,00	117	11,81
27		Castanha	Femea	5,0	6,96	57,10	17,10	82,10	24,54	29,90	16,05	10,75	2,73	0,80	1,77	0,00	67,00	17,00	5,00	11,00	0,00	154	10,58
28		Isca	Femea	1,0	6,60	56,40	16,40	85,40	24,88	29,10	15,52	9,93	3,88	0,93	0,78	0,00	64,00	25,00	6,00	5,00	0,00	146	11,08
29		Gema	Femea	2,0	5,82	48,40	14,60	83,20	25,09	30,20	15,26	10,22	3,36	1,07	0,61	0,00	67,00	22,00	7,00	4,00	0,00	273	9,72

Nº de Análise	Canil	Nome do Animal	Genero	Idade (anos)	Eritrócitos	Htc	Hemoglobina	VCM	HCM	CHCM	Leu	Neu	Linf	Mon	Eos	Bas	% Neut	% Linf	% Mon	% Eos	% Bas	Plaquetas	VPM
Intervalo de Referência					5,5-8,5	37-55	12,0-18,0	60-77	18,5-30	30-37,5	5,5-16,9	2,0-12	0,5-4,9	0,3-2	0,1-1,49	0-0,1						175-500	
30		Dior	Femea	2,0	7,45	59,80	16,40	80,30	22,04	27,50	12,22	7,94	2,93	0,86	0,49	0,00	65,00	24,00	7,00	4,00	0,00	123	8,14
31		Dara	Femea	3,0	7,16	59,70	16,00	83,30	22,32	26,80	10,78	6,47	2,91	0,86	0,54	0,00	60,00	27,00	8,00	5,00	0,00	177	9,78
32		Delta	Femea	3,0	7,94	67,50	19,10	85,10	24,09	28,30	8,85	5,22	3,01	0,44	0,18	0,00	59,00	34,00	5,00	2,00	0,00	112	9,86
33		Amendoa	Femea	7,0	7,72	61,10	17,40	79,10	22,48	28,40	14,09	8,03	4,65	0,70	0,70	0,00	57,00	33,00	5,00	5,00	0,00	127	11,06
34		Smach Senior	Macho	11,0	6,60	54,10	15,30	81,90	23,10	28,20	7,38	5,02	1,55	0,52	0,30	0,00	68,00	21,00	7,00	4,00	0,00	128	9,04
35		Diospiro	Macho	3,0	7,24	59,70	17,40	82,40	23,97	29,10	11,29	9,03	1,47	0,56	0,23	0,00	80,00	13,00	5,00	2,00	0,00	100	11,58
36	Filipa	Giesta	Femea	5,0	6,92	56,70	16,50	81,90	23,81	29,10	8,10	5,02	2,11	0,49	0,49	0,00	62,00	26,00	6,00	6,00	0,00	155	10,77
37	Leitão	Rookie	Macho	0,6	6,47	49,50	13,20	76,50	20,40	26,70	11,70	6,90	4,45	0,23	0,12	0,00	59,00	38,00	2,00	1,00	0,00	290	8,79

ANEXOS

ANEXO I - ESTALÃO DO CÃO SERRA DA ESTRELA

ANEXO I - ESTALÃO DO CÃO SERRA DA ESTRELA

ORIGEM: Portugal

DATA DE PUBLICAÇÃO DO ESTALÃO DE ORIGEM EM VIGOR: 04-11-2008
(<http://racas.cpc.pt/pt/standards/sestrela.pdf>)

UTILIZAÇÃO: Cão de protecção de rebanhos, de guarda, de família e até utilizado como animal de tracção.

CLASSIFICAÇÃO F.C.I.: Grupo 2 Pinscher e schnauzer, raças molossóides, cães suíços de montanha e boieiros e outras raças. Secção 2.2 Raças molossóides de tipo montanha.

Sem prova de trabalho.

BREVE RESUMO HISTÓRICO: Desde épocas remotas, este cão desenvolveu-se e fixou-se na região da Serra da Estrela, perdendo-se no tempo a sua verdadeira origem. Deve ser, no entanto, uma das raças caninas mais antigas da Península Ibérica. Encontra-se desde as imediações das faldas da Serra até às mais elevadas altitudes (2000 metros aproximadamente), sobretudo no Verão, em que, desaparecida a neve, as pastagens vicejam nas altas planuras, sendo procuradas pelos gados, visto, nas regiões do sopé, o calor excessivo ter dessecado toda a vegetação pascigosa. Os cães acompanham os rebanhos, como guardiões vigilantes, defendendo-os dos predadores que tais paragens infestam. O progressivo reconhecimento das suas aptidões tem levado à sua difusão por todo o Mundo, a partir da segunda metade do século XX.

ASPECTO GERAL: Cão grande, convexilíneo, molossóide, tipo mastim, existente na variedade de pêlo comprido e de pêlo curto. Animal rústico, bem entroncado, com viveza de andamentos e imponente de atitudes. Olhar vivo, calmo e expressivo. Bem proporcionado, morfologicamente perfeito, de uma acentuada harmonia de conjunto, reveladora de uma pureza étnica radicada pelo tempo.

PROPORÇÕES IMPORTANTES: Cão sublongilíneo, com tendência a mediolíneo. A altura do peito é inferior a metade da altura do garrote. O comprimento do chanfro e do crânio devem ser aproximadamente iguais, não o sendo, será o crânio ligeiramente mais comprido.

COMPORTAMENTO / CARÁCTER: Inseparável companheiro do pastor e guarda fiel do rebanho que, com valentia, defende contra os predadores e roubadores de gado. Magnífico guarda de quintas e habitações, sendo dissuasor para os estranhos e de uma docilidade característica junto do dono.

CABEÇA: Forte, volumosa, alongada e ligeiramente convexa. Com boa inserção. Proporcionada ao corpo, bem como o crânio em relação à face, o que lhe dá, em conjunto, uma acentuada harmonia. Pele lisa no crânio e face.

REGIÃO CRANIANA:

Crânio: Bem desenvolvido, arredondado, apresenta eixos longitudinais superiores crânio-faciais ligeiramente divergentes, perfil convexo, arcadas supraorbitárias pouco desenvolvidas com sulco frontal pouco aparente, crista occipital apagada.

Chanfradura Nasal (Stop): Depressão naso-frontal pouco pronunciada e a uma distância aproximadamente igual da ponta do focinho e da protuberância occipital.

REGIÃO FACIAL:

Trufa: Direita e bem aberta; larga, de cor preta.

Chanfro: Alongado; estreitando para a ponta, sem afilamento; tende para o rectilíneo, na sua maior extensão, e muito ligeiramente convexo junto à sua extremidade.

Lábios: Pouco espessos; grandes; não pendentes e bem sobrepostos; mucosa bucal e céu da boca intensamente pigmentados de preto, bem como os bordos labiais.

Mandíbulas/dentes: Boca bem rasgada com maxilas bem desenvolvidas; dentição completa com dentes fortes, brancos, bem implantados e adaptando-se bem, apresentando, preferencialmente, dentição do tipo tesoura, sendo tolerada também, a dentição em pinça.

Olhos: Horizontais, aflorados, de forma oval, de tamanho médio-pequeno, iguais e bem abertos, de expressão inteligente e calma; de cor âmbar escuro, de preferência. Pálpebras fechando bem e de bordos orlados a negro. Sobrolho um tanto aparente.

Orelhas: Média inserção; pendentes, inclinadas para trás, caindo lateralmente, encostadas à cabeça, e deixando ver, na base, um pouco da face interna (repuxadas); delgadas, de forma triangular, arredondadas na ponta; pequenas em relação ao conjunto.

PESCOÇO: Curto; direito e grosso; bem saído e bem unido; embarbelado sem demasia.

TRONCO:

Linha superior: Recta, quase horizontal.

Dorso: Bem musculado de preferência curto.

Lombo: Curto; largo; bem musculado e unido com a garupa.

Garupa: Um pouco descaída; curta; larga e musculada. A altura da garupa deverá ser igual ou ligeiramente superior à altura ao garrote.

Peito: Largo; profundo; bem arqueado, sem ser cilíndrico, e bem descido, junto ou ligeiramente abaixo do codilho.

Linha inferior e ventre: A linha inferior deve elevar-se, de uma forma gradual, mas suave, do esterno às virilhas; abdómen pouco volumoso, proporcionado à corpulência do animal, ligando-se insensivelmente com as regiões confinantes.

CAUDA: Média inserção; inteira; comprida; grossa; porte abaixo da horizontal, em forma de cimitarra, formando gancho na ponta, caindo naturalmente entre as coxas, chegando a ponta pelo menos ao curvilhão, quando o animal está tranquilo; excitado e em movimento, a cauda ultrapassa a horizontal, encurvando-se para cima e para diante, para o lado e para baixo, sem ser transportada sobre a garupa. Deve ser bem guarneçada de pêlos, sendo franjada na variedade de pêlo comprido.

MEMBROS:

MEMBROS ANTERIORES: Bem aprumados, esqueleto bem constituído, com articulações grossas, ângulos de abertura regular, com grande facilidade de movimentos; ossatura forte.

Antebraços: Bem constituídos, compridos, com forte ossatura e aproximando-se da forma cilíndrica.

Mãos: Proporcionadas, bem constituídas, nem muito redondas, nem alongadas em excesso, intermédio dos pés de gato e de lebre, de forma a evitar o espalmado, providas de pêlos abundantes nos espaços interdigitais e entre os tubérculos plantares; dedos grossos; bem unidos; unhas escuras, preferencialmente pretas, bem saídas; palmas grossas e duras.

MEMBROS POSTERIORES: Bem aprumados, esqueleto bem constituído, com articulações grossas, ângulos de abertura regular, com grande facilidade de movimentos; ossatura forte.

Curvilhão: Um pouco descido, regularmente aberto e de boa direcção, seguindo-se-lhe uma canela vertical, quase cilíndrica.

Pés: Idênticos às mãos, os pés podem apresentar presunhos simples ou duplos.

ANDAMENTOS: Movimentos normais e fáceis.

PELAGEM:

Pêlo: Forte, muito abundante, ligeiramente grosseiro, sem demasiada aspereza, fazendo lembrar um pouco o pêlo de cabra. O subpêlo é constituído por pêlos finos, curtos, abundantes e emaranhados, normalmente mais claros que a pelagem.

Variedade de pêlo comprido: Pêlo liso ou ligeiramente ondulado apresentando-se desigual em certas regiões. Nos membros, dos codilhos e curvilhões abaixo, é mais curto e denso, assim como na cabeça; nas orelhas, diminui de comprimento da base para a ponta, tornando-se fino e macio. É mais comprido na cauda, que é farta, grossa e franjada, em volta do pescoço e bordo inferior, e nas nádegas que são abundantemente franjadas, bem como na face posterior dos antebraços.

Variedade de pêlo curto: Pêlo liso, homogéneo em todo o corpo, sendo ligeiramente mais curto na cabeça e membros, não podendo apresentar franjas.

Cores: São admitidas e consideradas típicas as seguintes cores:

Unicolores: amarelo, fulvo e cinza em todos os gradientes de intensidade de cor;

Lobeiros: lobeiro fulvo, lobeiro amarelo e lobeiro cinza, nas tonalidades claro, comum ou escuro;

Raiados: raiados fulvo, raiados amarelo e raiados cinza.

Na região crânio-facial é típica a máscara de cor negra. As malhas brancas são admitidas apenas nas extremidades dos pés e mãos e em pequena extensão na face ventral do pescoço e peito.

ALTURA E PESO:

Altura ao garrote:

Machos: 65-73 cm

Fêmeas: 62-69 cm

Peso:

Machos: 45-60 kg

Fêmeas: 35-45 kg

DEFEITOS: Qualquer desvio em relação ao estalão deve ser considerado como falta e penalizado na exacta proporção da sua gravidade e das suas consequências na saúde e bem-estar do cão.

Aparência: Mau aspecto geral, magreza ou obesidade.

Altura: Fora dos limites estabelecidos pelo estalão, mas dentro de uma tolerância de 2 centímetros no limite superior.

Cabeça: Estreita, comprida e afilada.

Olhos: Claros.

Orelhas: Má inserção, muito grandes, carnudas e redondas. Placadas.

Cauda: Transportada sobre o dorso. Ausência de gancho.

Pelagem: Ausência de máscara negra.

DEFEITOS GRAVES

Temperamento: Exemplares evidenciando desequilíbrio nervoso, com sinais de timidez.

Pelagem: Pêlo afastando-se do tipo natural.

Trufa: Ventas claras, em especial almaradas.

Orelhas: Amputadas.

Cauda: Amputada ou rudimentar.

Altura: Excessiva (gigantismo) ou diminuta (nanismo), isto é:

Machos: < 65 cm ou > 75 cm

Fêmeas: < 62 cm ou > 71 cm

DEFEITOS ELIMINATÓRIOS (DESQUALIFICAÇÕES):

Tipo: Atípico.

Temperamento: Agressividade. Timidez exacerbada.

Cabeça: Muito estreita, muito comprida e muito afilada completamente fora do tipo molossóide.

Maxilas: Prognatismo e endognatismo.

Olhos: Gázeos ou desiguais de tamanho.

Cauda: Anuros.

Pelagem: Albinismo. Cores diferentes das estabelecidas pelo estalão. Pêlo completamente afastado do tipo natural.

Testículos: Monorquídeo ou criptorquídeo.

Todo o cão que apresentar qualquer nível de anomalia física ou de comportamento deve ser desqualificado.

Nota: Os machos devem sempre apresentar os dois testículos, de aparência normal, bem descidos no escroto.