

MORFOLOGIA DE CÉLULAS SANGÜÍNEAS DE EMA, *Rhea americana*, CRIADAS EM CRIATÓRIO CONSERVACIONISTA

Gallo S.S.M.¹, Oliveira F.C.R.², Ederli N.B.³, Boa-Morte M.O.⁴

¹UENF/Graduanda em Medicina Veterinária, samiragallo@yahoo.com.br

²UENF/Professor Associado I, Laboratório de Clínica e Cirurgia Animal, foliveira@uenf.br

³UENF/Doutoranda em Ciência Animal, ederli@uenf.br

⁴UFJF/Doutorando em Ciência Animal, muriloboamorte@yahoo.com.br

Resumo - O estudo das células sanguíneas e conteúdo plasmático das aves é importante para uma correta avaliação clínica, logo, o presente trabalho objetiva descrever a morfologia e morfometria das células sanguíneas de emas, *Rhea americana*. Para tanto, foram colhidas amostras de sangue de 48 emas, adultas de ambos os sexos. Para a caracterização morfológica foram feitas microscopia dos esfregaços corados, com o auxílio de um microcomputador e do Software Zeiss AxionVision Sample Images os eritrócitos, heterófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e trombócitos foram morfolologicamente caracterizados, identificados e medidos seus comprimentos e larguras. Não foram observados basófilos nos esfregaços de sangue total em nenhuma das amostras examinadas. Para a análise de tendência central dos comprimentos e largura das células e trombócitos presentes no sangue das emas, utilizou-se o programa SAEG. Com exceção das hemácias as células presentes no sangue das emas apresentam pleomorfismo, no entanto, estas puderam ser diferenciadas caracterizando a importância do estudo destas células em sangue de ema o que pode contribuir no auxílio de diagnóstico nas avaliações clínicas destas aves.

Palavras-chave: Hematologia, ratitas, eritrócito, leucócito, trombócito.

Área do Conhecimento: Medicina Veterinária

Introdução

A hematologia aviária é um tema pouco explorado, no entanto, sua aplicação é usualmente utilizada no monitoramento da saúde geral dos animais, bem como na avaliação de sua capacidade para transportar oxigênio e defender-se contra os agentes infecciosos (VOIGT, 2003).

As células do sistema imunológico das aves são classificadas de acordo com a morfologia nuclear e dos grânulos. Os agranulócitos são constituídos por linfócitos, macrófagos, monócitos e trombócitos, enquanto os granulócitos são constituídos por heterófilos,

eosinófilos, basófilos e mastócitos. Nesse sentido, a morfologia destas células varia de acordo com as espécies aviárias (NORIEGA, 2000; MORGULIS, 2002).

Para uma correta avaliação clínica é importante o estudo das células sanguíneas e conteúdo plasmático das aves, haja vista que são informações pouco encontradas na literatura. Logo, o presente trabalho objetiva descrever a morfologia e morfometria das células sanguíneas de emas, *Rhea americana*, uma ave silvestre com potencial como fonte de proteína para humanos, que vem sendo criada comercialmente em várias partes do mundo. (DEEMING, 2006).

Metodologia

Neste estudo foram utilizadas 48 emas, *R. americana*, adultas de ambos os sexos, criadas em piquetes em um Criatório Conservacionista da cidade de Cachoeiro do Itapemirim-ES, Brasil. Estas aves são alimentadas com verduras, legumes e frutas frescas, misturado a ração comercial própria para ratitas que são fornecida duas vezes ao dia. Os piquetes não têm cobertura vegetal tendo os animais livre acesso a bebedouros automáticos que dispõem água *ad libitum* tratada fornecida pela concessionária municipal.

Embora tenha o criatório todos os animais registrados, sexados e chipados, estes são criados juntos com agrupamentos naturais em famílias, sem qualquer controle reprodutivo, apenas ovos são recolhidos e encubados artificialmente de acordo com as necessidades de manutenção do plantel.

As amostras de sangue foram colhidas por punção da veia braquial (veia da asa), após anti-sepsia local com solução de álcool iodado a 2% utilizando-se agulhas descartável de dimensão 40x12 acopladas a seringas plásticas de 10 mL, também descartáveis. O sangue foi acondicionado em tubos de vidro contendo ácido etileno aminotetracético (EDTA), identificados e mantidos em refrigeração até seu processamento.

Para a caracterização morfológica foram feitas microscopia dos esfregaços corados, captura de imagens em câmera digital e com o auxílio de um microcomputador e do Software Zeiss AxionVision Sample Images as células e trombócitos foram morfológicamente caracterizados, identificados e medidos seus comprimentos e larguras.

Para a análise de tendência central comparação dos comprimentos e largura das células e trombócitos presentes no sangue das emas, utilizou-se o programa SAEG.

Resultados

Nos esfregaços observou-se eritrócitos com formato ovais à elípticos de tamanhos variados (Tabela 1), com citoplasmas de coloração róseo-alaranjado e núcleo central de mesma forma da célula. Estes de coloração púrpura escuro com cromatina condensada (Figura 1A).

Os heterófilos (Figura 1B) apresentaram-se grandes (Tabela 1) arredondados com citoplasmas claros e presentes grânulos pleomórficos de tons eosinofílicos, núcleos basofílicos que quando maduros possuíam lobulações nucleares (Figura 1C).

Observou-se nos linfócitos (Figura 1A) das emas citoplasma azulados (Figura 1 C), alguns granulares e outros sem granulações de tamanhos variados (Tabela 1).

Quanto aos monócitos, estes foram caracterizados por células grandes (Tabela 1), de citoplasmas fracamente corados em azul com a presença em algumas células de pequenos vacúolos e núcleo arredondado, bilobulado, ou em forma de feijão (Figura 1D).

Os trombócitos presentes no sangue das emas eram, na maioria, ovais (Tabela 1) de citoplasma pouco corados contendo grânulos basofílicos e vacuolizações. O núcleo desta célula apresentava-se de arredondado a elipsóide (Figura 1E).

Eosinófilos foram caracterizados como células arredondadas de variados tamanhos (Tabela 1), com citoplasma pouco corado contendo grânulos brilhantes (Figura 1E), seu núcleo apresentava-se bilobulado e corados e basofilicamente (Figura 1F).

Tabela 1. Morfometria de células sanguíneas de emas, *Rhea americana*, criadas em cativeiro na cidade de Cachoeiro do Itapemirim, Estado do Espírito Santo, Brasil.

Células	n	Medidas em micrômetros		Índice Morfométrico
		Comprimento	Largura	
Eritrócitos	240	13,89±1,00 (11,15-17,00)	8,51±0,94 (1,87-12,35)	1,66
Heterófilos	239	13,12±1,56 (9,73-20,24)	11,64±1,28 (7,92-15,15)	1,13
Linfócitos	240	8,87±2,00 (5,69-16,34)	7,53±1,74 (4,41-13,25)	1,19
Monócitos	223	16,19±2,41 (11,14-24,47)	13,81±2,08 (9,06-21,20)	1,18
Eosinófilos	189	13,15±1,65 (8,95-19,29)	11,23±1,31 (7,73-15,22)	1,18
Trombócitos	240	8,55±1,53 (5,46-13,96)	6,75±1,33 (3,54-10,69)	1,29

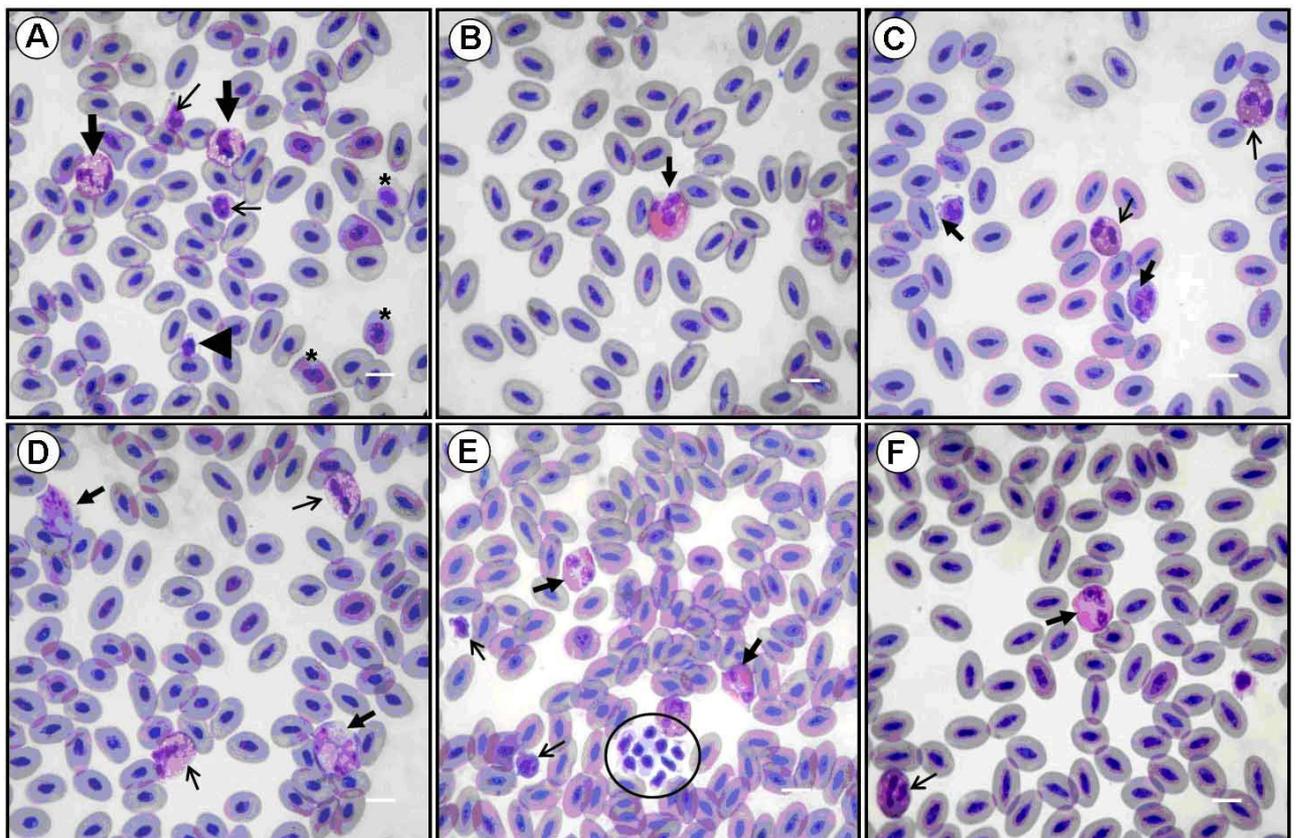


Figura 1: Esfregaços sanguíneos de ema, *Rhea americana*, criadas em um criatório conservacionista. Em **A** hemácias jovens (*) e maduras; seta cheia sinaliza heterófilo; seta vazia linfócito e cabeça de seta trombócito. Em **B** seta destaca heterófilo com granulações pleomórficas no citoplasma. Em **C** seta cheia destaca linfócito com citoplasma azulado; seta vazia observa-se heterófilo com citoplasma com grânulos eosinofílicos. Em **D** seta cheia mostra grandes monócitos com citoplasma fracamente corado em azul e núcleo lobulado; seta vazia destaca heterófilo. Em **E** em destaque agrupamento de trombócitos com citoplasma pouco corado e núcleos arredondados eosinofílicos, destaca-se também (seta cheia), eosinófilo e linfócito (seta vazia). Em **F** seta cheia indica eosinófilos arredondados com citoplasma

contendo grânulos brilhantes, observa-se também no canto inferior esquerdo (seta vazia) um heterófilo diferenciado pelo citoplasma com grânulos eosinofílicos. Barras de 10 µm.

Discussão

Aves apresentam eritrócitos ovais ou elípticos com núcleo central acompanhando a forma da célula, citoplasma de coloração róseo-alaranjado, semelhante a dos mamíferos (BOUNOUS & STEDMAN, 2000). Estas características foram também observadas nos eritrócitos das emas. Os resultados da morfologia destas células no sangue das emas (Tabela 1) corroboram com a grande variabilidade no tamanho destas células em outras espécies (BOUNOUS & STEDMAN, 2000).

Heterófilos estão envolvidos na resposta inflamatória primária de aves (MAXWELL & ROBERTSON, 1998). Estes são redondos e maiores que as hemácias e que raramente variam de tamanho (CAMPBELL, 1995), característica não observada na morfometria no sangue de emas (Tabela 1). Não foi possível também identificar a forma de bastão dos grânulos como citado por JAIN et al. (2000) para heterófilos de aves. O núcleo basofílico com regiões mais escuras representando cromatina condensada também foi observado e em células maduras assim como lobulações nucleares como citado por LUCAS & JAMROZ (1961) e BONADIMAN et al. (2009).

Os linfócitos de emas tal como de outras ratitas apresentam citoplasma que se cora em tons azulados (GREEN & BLUE-MACLENDON, 2000). O núcleo possui cromatina densa e está ligeiramente de um dos lados ou bem no centro da célula (LUCAS & JAMROZ, 1961). O citoplasma, pode conter alguns grânulos eosinofílicos conforme descrito por RUPLEY (1999). São os linfócitos os responsáveis pela imunidade específica nas aves (POWELL, 1987; MORGULIS, 2002).

Semelhantes aos monócitos das aves, em emas ela deve ter capacidade de fagocitar partículas estranhas (MORGULIS, 2002). Os monócitos das emas são células grandes (Tabela 1), com quantidade moderada de citoplasma azul acinzentado, que eventualmente contém vacúolos pequenos e discretos. GREEN & BLUE-MACLENDON (2000) descreveram o núcleo de monócitos de ratitas como pleomórfico, com cromatina menos condensada que nos linfócitos variando de arredondado, bilobulado, ou em forma de feijão, estas características também pode ser observadas em monócitos de emas. Monócitos são ainda, geralmente, maiores que os linfócitos (BENEZ, 2001) o que foi observado também no sangue das emas.

Eosinófilos são células arredondadas que possuem grande variação de tamanho (LUCAS & JAMROZ, 1961). O citoplasma é azul pálido, com grânulos brilhantes arredondados de cor alaranjada (CAMPBELL & DEIN, 1984). O núcleo é bilobulado (RUPLEY, 1999) e basofílico com regiões mais escuras de heterocromatina (LUCAS & JAMROZ, 1961). Estas características corroboram as observadas nestas mesmas células nas emas. Em avestruzes, BONADIMAN et al. (2009) observou ultraestruturalmente que os grânulos presentes no citoplasma eram de formato variável e tamanhos iguais.

Nas emas, como nas aves, os trombócitos exercem função semelhante à das plaquetas dos mamíferos (FRYE, 1991; PELLIZON, 1996; APRILE et al., 2006), e apresentam características ovais e menores que as hemácias. O citoplasma é incolor de aparência reticulada, que frequentemente contém vacuolizações ou grânulos basofílicos. O núcleo, redondo ou alongado, ocupa cerca de um terço do volume da célula (CAMPBELL & DEIN, 1984).

Conclusão

Com exceção das hemácias as células presentes no sangue de emas apresentam pleomorfismo, no entanto, estas podem ser diferenciadas ao serem observadas em esfregaços de sangue corados, importante na contagem diferencial das mesmas e diagnóstico de doenças nestas aves.

Referências

- APRILE, G.; BELDOMENICO, P.; SOLÍS, G.; MARULL, C.; BEADE, M.; CARMINATI, A.; MORENO, D. Evaluation of the health of free-ranging greater rheas (*Rhea americana*) in Argentina. **Veterinary Record** 158: 297, 2006.
- BENEZ S.M. Aves: criação, clínica, teoria e prática. Silvestres, ornamentais, avinhados. 3. ed. **Robe**, São Paulo. 522pp, 2001.
- BONADIMAN S.F.; STRATIEVSKY, G.C.; MACHADO, J.A.; ALBERNAZ A.P.; RABELO, G.R.; DAMATTA, R.A. Leukocyte ultrastructure, hematological and serum biochemical profiles of ostriches (*Struthio camelus*), **Poultry Science**,
- BOUNOUS D.I.; STEDMAN N.L. Normal Avian hematology: Chicken and Turkey. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. Schalm's Veterinary Hematology, 5.ed., Philadelphia, **Lippincot, Williams & Wilkins**, p. 1147-1154, 2009.
- CAMPBELL T.W. Common avian blood parasites. In Avian Hematology and Cytology, **Ioma State Press**, Ames, IA, p.30-34, 1995.
- CAMPBELL T.W., DEIN, F.J. Avian Hematology. The basics. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.** 14:223-248, 1984.
- DEEMING D.C. Incubação de ovos de Avestruzes, ema, emú e casuar, Viçosa, 257pp., 2006.
- FRYE F.L. Biomedical and Surgical aspects of Captive Reptile Husbandry. 2.ed. **Krieger Publishing Company**, Melbourne, 635pp, 1991.
- GREEN R.A.; BLUE-MACLENDON A. Ratite hematology. In: FELDMAN B.F.; ZINKL J.G.; JAIN N.C.A. Schalm's Veterinary Hematology, 5 ed. **Lippincott Willians & Wilkins**, Baltimore, p. 1201-1206, 2000.
- JAIN, N.C.; FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G. Schalm's Veterinary Hematology, 5 ed., **Philadelphia: Lea & Febiger**, 538 p, 2000.
- LUCAS A.M., JAMROZ, C. Atlas of Avian Haematology. **USDA**, Washington, DC, 271 pp, 1961.
- MAXWELL, M.H.; ROBERTSON, G. W. The avian heterophil leucocyte: a review. **World's Poult. Sci. J.** 54: 155-178, 1998.
- MORGULIS M.S. Imunologia aplicada. In: MACARI M.; FURLAN R.L.; GONZALES E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. **FUNEP/UNESP**, Jaboticabal, 375pp, 2002.
- NORIEGA M.L.V.C. Apuntes de hematologia aviar. **Universidad Nacional Autónoma**, México, 70pp, 2000.
- PELLIZON C.H. Participação de trombócitos de tartarugas em processos endocíticos. Uma análise ultra-estrutural e citoquímica. Dissertação de Mestrado. Escola Paulista de Medicina, 1996.
- POWELL P.C. Immunemechanisms in Infections of Poultry. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 15: 87-113, 1987.
- RUPLEY A.E. Patologia Clínica. In: RUPLEY A.E. Manual de Clínica Aviária. **Roca**, São Paulo, p 364-430, 1999.
- VOIGT G.L. Conceptos y Técnicas Hematológicas para Técnicos Veterinarios. **editorial ACRIBIA**, Zaragoza, 144pp, 2003.