



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AGRESTE DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
ANIMAIS DE PRODUÇÃO

MESTRADO ACADÊMICO

POLIANA BARBOSA MARTINS DE OLIVEIRA

INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE COLHEITA DE SANGUE SOBRE PARÂMETROS
HEMATOLÓGICOS DE CAPRINOS DA RAÇA SAANEN

GARANHUNS

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AGRESTE DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
ANIMAIS DE PRODUÇÃO

MESTRADO ACADÊMICO

POLIANA BARBOSA MARTINS DE OLIVEIRA

INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE COLHEITA DE SANGUE SOBRE PARÂMETROS
HEMATOLÓGICOS DE CAPRINOS DA RAÇA SAANEN

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, como exigência parcial para obtenção do título de Mestra em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Fontes Baptista Filho.

Coorientadora: Profa. Dra. Taciana Rabelo Ramalho Ramos.

Linha de Pesquisa: Sanidade de animais de produção

GARANHUNS

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas (SIB-UFAPE)

O48i Oliveira, Poliana Barbosa Martins de
Influência do método de colheita de sangue sobre parâmetros hematológicos de caprinos da raça Saanen / Poliana Barbosa Martins de Oliveira. – Garanhuns, 2025.
84 f. : il. color.

Orientador(a): Luiz Carlos Fontes Baptista Filho.
Coorientador(a): Taciana Rabelo Ramalho Ramos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção, Garanhuns, BR-PE, 2025.

Inclui referências e anexo.

1. Hematologia veterinária. 2. Hemograma. 3. Caprinos. 4. Ruminantes. I. Baptista Filho, Luiz Carlos Fontes (orient.) II. Ramos, Taciana Rabelo Ramalho (coorient.) III. Universidade Federal do Agreste de Pernambuco Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção IV. Título

CDD 636.089615

POLIANA BARBOSA MARTINS DE OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE COLHEITA DE SANGUE SOBRE PARÂMETROS
HEMATOLÓGICOS DE CAPRINOS DA RAÇA SAANEN**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção, da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, como exigência parcial para obtenção do título de Mestra em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Fontes Baptista Filho.

Coorientadora: Profa. Dra. Taciana Rabelo Ramalho Ramos.

Linha de Pesquisa: Sanidade de animais de produção

Aprovado em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Carlos Fontes Baptista Filho. (Orientador)
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco - UFAPE.

Profa. Dra. Taciana Rabelo Ramalho Ramos.
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco - UFAPE.

Dra. Gliére Silmara Leite Soares.

Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária do Estado de Pernambuco - ADAGRO

Dedico este trabalho à minha família, meu maior apoio e fonte de inspiração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Eterno, criador do universo. À minha família por todo apoio e compreensão.

Ao meu orientador, sempre presente, pela confiança e suporte. Aos docentes do PPGSA pelo conhecimento transmitido ao longo desta etapa da minha formação. Aos amigos e colegas, que de tantas formas ajudaram na concretização deste trabalho.

À UFAPE e à UFRPE, pela oportunidade. À CAPES pelo apoio financeiro.

“A vida de toda carne é o seu sangue.”
(LEVÍTICO 17:14)

RESUMO

Exames hematológicos são essenciais para a avaliação da saúde dos animais, e a minimização de erros em todas as etapas desses exames é fundamental para a precisão dos resultados. Dentre os erros pré-analíticos mais comuns, inclui-se a transferência traumática do sangue para o tubo de colheita, causando hemólise nas amostras por danos mecânicos à membrana das hemácias, sendo este o principal erro associado a hemólise *in vitro*. A literatura sugere que, para a espécie caprina, o uso de sistemas a vácuo e agulhas de calibre reduzido é desaconselhado, uma vez que esses métodos poderiam aumentar a ocorrência de hemólise devido à maior fragilidade dos eritrócitos da espécie. O tamanho reduzido das hemácias dos caprinos contribui para essa maior fragilidade, sendo ainda possível associá-la a outros fatores, tais como particularidades da composição da membrana eritrocitária e influência de fatores hormonais, nutricionais e climáticos. Este estudo teve como objetivo avaliar a influência de dois métodos de colheita de sangue em parâmetros hematológicos de caprinos adultos da raça Saanen: com sistema a vácuo e agulha 25 x 0,7 mm; e por gravidade, com agulha 40 x 1,2 mm. Foram utilizados 50 caprinos oriundos de propriedades de Garanhuns-PE e Alagoinha-PE, sem distinção de manejo ou sexo, considerados hígidos após exame físico. Realizou-se colheita de sangue da veia jugular, com a análise dos parâmetros hematológicos segundo metodologia padrão. As variáveis quantitativas foram submetidas à análise descritiva, com dados apresentados por meio de médias e desvios-padrão. A distribuição normal dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias, pelo teste de Levene. As variáveis que atenderam às premissas distribuição normal e homogeneidade das variâncias foram comparadas pelo teste t de Student. Os demais dados foram avaliados pelo teste U de Mann-Whitney para amostras independentes. O nível de significância utilizado foi de 0,05. Não foram observadas diferenças significativas nos resultados de contagem de hemácias, hematócrito, volume corpuscular médio, leucócitos totais e proteínas plasmáticas totais entre os dois métodos de colheita. Esses resultados indicam que, sob as condições do estudo, o sistema a vácuo não induziu hemólise significativa, e ambos os métodos são confiáveis para uso em caprinos.

Palavras-chave: Hematologia; Hemograma; Hemólise; Pequenos ruminantes.

ABSTRACT

Hematological tests are essential for assessing animal health, and minimizing errors at all stages of these tests is crucial for the accuracy of the results. Among the most common pre-analytical errors is the traumatic transfer of blood into the collection tube, causing hemolysis in the samples due to mechanical damage to the erythrocyte membrane, which is the main error associated with *in vitro* hemolysis. The literature suggests that for the caprine species, the use of vacuum systems and small gauge needles is not recommended, as these methods could increase the occurrence of hemolysis due to the greater fragility of the species' erythrocytes. The reduced size of caprine red blood cells contributes to this greater fragility, which can also be associated with other factors, such as peculiarities in the composition of the erythrocyte membrane and the influence of hormonal, nutritional, and climatic factors. This study aimed to evaluate the influence of two blood collection methods on the hematological parameters of adult Saanen goats: with a vacuum system and a 25 x 0.7 mm needle; and by gravity, with a 40 x 1.2 mm needle. Fifty goats from properties in Garanhuns-PE and Alagoinha-PE were used, with no distinction of management or sex, considered healthy after a physical examination. Blood was collected from the jugular vein, and hematological parameters were analyzed using standard methodology. Quantitative variables were subjected to descriptive analysis, with data presented as means and standard deviations. The normal distribution of the data was assessed by the Shapiro-Wilk test, and the homogeneity of variances was assessed by the Levene test. The variables that met the assumptions of normal distribution and homogeneity of variances were compared using the Student's t-test. The other data were evaluated by the Mann-Whitney U test for independent samples. The significance level used was 0.05. No significant differences were observed in the results of red blood cell count, hematocrit, mean corpuscular volume, total leukocytes, and total plasma proteins between the two collection methods. These results indicate that, under the study conditions, the vacuum system did not induce significant hemolysis, and both methods are reliable for use in goats.

Keywords: Hematology; Blood Count; Hemolysis; Small ruminants.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 -	Hemácias de diferentes espécies ruminantes.....	21
Figura 2 -	Tipos de leucócitos.....	25
Figura 3 -	Plaquetas de caprino.....	27
Figura 4 -	Curvas acumulativa e derivativa da fragilidade osmótica dos eritrócitos de fêmeas bovinas sadias.....	29
Figura 5 -	Composição da membrana eritrocitária.....	30
Figura 6 -	Canais de água e canais de íons em membrana de célula animal.....	31
Figura 7 -	Fragilidade osmótica de eritrócitos de fêmeas bovinas das raças Gir, Girolando e Holandesa.....	32
Figura 8 -	Curva de fragilidade de eritrócitos caprinos em solução salina pura e em adição de cloreto de mercúrio.....	34
Figura 9 -	Fragilidade eritrocitária de caprinos e ovinos em diferentes estações.....	36
Figura 10 -	Mecanismos relacionados a sepsse que podem induzir hemólise.....	37
Figura 11 -	Técnicas manuais para realização de eritrograma e proteinograma.....	39

CAPÍTULO II – PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Figura 1 -	Colheita de sangue de caprinos adultos e hípidos, da raça Saanen, por diferentes métodos.....	55
------------	---	----

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

Quadro 1 -	Interpretação clínica de parâmetros hematológicos eritrocitários.....	23
------------	---	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1 - Número, diâmetro e meia-vida das hemácias por espécie animal.....	22
Tabela 2 - Percentual de amostras hemolisadas em hospital veterinário educacional...	41
Tabela 3 - Parâmetros hematológicos de normalidade para caprinos.....	42

CAPÍTULO II – PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Tabela 1 - Médias e desvios-padrão de variáveis hematológicas de caprinos adultos, hípidos, da raça Saanen, a partir de amostras colhidas com sistema a vácuo e por gravidade.	56
---	----

LISTAS DE ABREVIACOES E SIGLAS

AA	Ácido ascórbico
ATP	Adenosina trifosfato
CID	Coagulação intravascular disseminada
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EM	Esfingomielina
FC	Fosfatidilcolina
FCM	Fragilidade eritrocitária média
FE	Fosfatidiletanolamina
FOE	Fragilidade osmótica eritrocitária
FS	Fosfatidilserina
GPA	Glicoforina A
GPC	Glicoforina C
Hb	Hemoglobina
Ht	Hematócrito
LT	Leucócitos totais
pH	Potencial hidrogeniônico
PPT	Proteínas plasmáticas totais
SPSS	Statistical Package os Social Science
VCM	Volume corpuscular médio
VGM	Volume globular médio
UFAPE	Universidade Federal do Agreste de Pernambuco

LISTA DE SÍMBOLOS

Dl	Decilitro
fL	fentolitro
g	grama
mg	Miligramma
mm	Milímetro
mm ³	Milímetro cúbico
NaCl	Cloreto de sódio
O	Oeste
S	Sul
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
%	Percentual
°	Grau
°C	Graus Celsius
'	Minutos
“	Segundos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL.....	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1	CONSTITUIÇÃO SANGUÍNEA: CARACTERÍSTICAS E FUNÇÕES DOS ELEMENTOS FIGURADOS E CONSTITUINTES PLASMÁTICOS	19
3.1.1	Série vermelha: hemácias	21
3.1.2	Série branca: leucócitos	24
3.1.3	Plaquetas	27
3.1.4	Proteínas plasmáticas totais	28
3.2	FATORES RELACIONADOS À FRAGILIDADE DE ERITRÓCITOS.....	29
3.2.1	Fatores intrínsecos que afetam a fragilidade eritrocitária	31
3.2.2	Fatores extrínsecos que afetam a fragilidade eritrocitária	33
3.3	EXAMES HEMATOLÓGICOS E POSSÍVEIS FALHAS.....	38
3.3.1	Erros pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos em exames hematológicos	40
3.3.2	Particularidades dos exames hematológicos na espécie caprina	42
	REFERÊNCIAS	45
4	CAPÍTULO II – PRODUÇÃO CIENTÍFICA	49
4.1	ARTIGO CIENTÍFICO - AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE MÉTODOS DE COLHEITA DE SANGUE SOBRE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE CAPRINOS DA RAÇA SAANEN: COMPARAÇÃO ENTRE SISTEMA A VÁCUO E COLHEITA POR GRAVIDADE	49
	ANEXO A - NORMAS DE REDAÇÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO DA REVISTA <i>CADERNO PEDAGÓGICO</i>	61
	ANEXO B – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA – UFAPE	74

1 INTRODUÇÃO

Avaliações hematológicas fornecem importantes informações acerca da saúde de ruminantes, sendo de grande relevância que profissionais responsáveis pela execução dos exames tenham conhecimento dos métodos corretos de colheita e processamento das amostras. Para isso, devem-se levar em consideração as particularidades inerentes a cada espécie, evitando-se assim falhas, que podem levar a erros nos resultados dos exames (Thrall *et al.*, 2015; Whipple; Leissingner; Beatty, 2020).

As hemácias dos ruminantes apresentam maior fragilidade em comparação com as de outras espécies, sendo as dos caprinos particularmente mais susceptíveis à hemólise, que é o processo de destruição das hemácias, além de apresentarem características distintivas, como o tamanho reduzido. Tais particularidades suscitam questionamentos sobre a adequação dos processos de colheita e processamento das amostras, bem como sobre a interpretação dos resultados, que pode variar conforme o método empregado (Duncan; Prasse, 1982; Newcomer *et al.*, 2021).

Em relação à minimização da hemólise nas amostras de sangue, a literatura desaconselha a colheita de sangue de caprinos com sistemas a vácuo ou com agulhas de calibre reduzido. A hipótese é de que estes métodos poderiam aumentar a probabilidade de hemólise, uma vez que as hemácias dos caprinos são mais susceptíveis a danos mecânicos em comparação com as de outras espécies (Newcomer *et al.*, 2021).

A hemólise pode resultar em alterações nos testes de contagem de células sanguíneas e outros parâmetros hematológicos (Whipple; Leissingner; Beatty, 2020). Adicionalmente, quando os componentes intracelulares das hemácias são liberados no plasma, pode também haver interferência na precisão de exames laboratoriais, como avaliações bioquímicas. Por exemplo, a presença da hemoglobina liberada no plasma pode distorcer medições e comprometer a avaliação da saúde do animal (Larrán *et al.*, 2024).

Portanto, a minimização da hemólise é essencial para garantir a qualidade das amostras e a confiabilidade dos resultados diagnósticos em caprinos (Newcomer *et al.*, 2021). Contudo, há uma carência de pesquisas que avaliem a interferência dos métodos de colheita, particularmente pelo uso de sistemas a vácuo com agulha de calibre reduzido, no que se refere às alterações de resultados de parâmetros hematológicos de caprinos.

Nesse contexto, objetivou-se com o presente estudo estabelecer uma comparação entre os resultados dos principais parâmetros hematológicos de caprinos, através de análise de amostras obtidas por dois métodos de colheita diferentes: a vácuo, com agulha de calibre 25 x

0,7 mm, e por gravidade, com agulha de 40 x 1,2 mm. Os objetivos específicos incluíram avaliar a interferência dos dois métodos de colheita no eritrograma, leucograma e proteinograma de caprinos.

A contribuição esperada foi a de proporcionar maior segurança na interpretação de resultados de análises hematológicas de caprinos, considerando o método de colheita, tanto para a prática clínica quanto para a precisão de pesquisas científicas.

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso dos Animais da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (CEUA-UFAPE), sob licença CEUAUFAPE2024020531 (Anexo B).

Foram utilizados na pesquisa 50 caprinos adultos da raça Saanan, sem distinção de manejo ou sexo, oriundos de criatórios de Garanhuns-PE e de Alagoinha-PE, submetidos previamente a exame clínico, de acordo com Pugh *et al.* (2020). Apenas animais considerados hígidos foram incluídos na avaliação.

Para execução do hemograma, foi colhido de todos os animais selecionados, em tubos de 4 mL contendo EDTA, sangue da veia jugular externa esquerda utilizando sistema a vácuo, com agulhas 25 x 0,7 mm, e 4 mL de sangue da veia jugular direita por gravidade, com agulha 40 x 1,2 mm. Antes da venopunção, foi feita antissepsia do local com álcool 70° e, após remoção da agulha, foi feita compressão local. A execução e análise das amostras, bem como a interpretação dos resultados do hemograma seguiu metodologia proposta por Thrall *et al.* (2015).

Os tubos contendo as amostras foram identificados de acordo com o método de colheita utilizado, e devidamente transportados em caixa isotérmica, evitando-se interferência de fatores externos que pudessem predispor à hemólise. No Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, foi realizada a análise das amostras de cada animal.

A contagem total de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) e de leucócitos ($/\mu\text{L}$) foi realizada em duplicata, manualmente, por meio de leitura em hemocítmetro após diluição (Weiss; Wardrop, 2010). A determinação do hematócrito (Ht) foi feita por microtécnica, utilizando-se tubos capilares de vidro, com resultados expressos em porcentagem (%). Os valores absolutos de volume corpuscular médio (VCM) foram obtidos a partir dos valores resultantes das contagens de hemácias e dos hematócritos, através de cálculos matemáticos. Para a dosagem de proteínas plasmáticas totais (PPT), utilizou-se refratômetro óptico, com resultados em grama por decilitro (g/dL).

Para avaliar os efeitos do tipo de colheita utilizada sobre os parâmetros hematológicos, as variáveis quantitativas foram submetidas à análise descritiva, com dados apresentados por meio de médias e desvios-padrão. A distribuição normal dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias, pelo teste de Levene. As variáveis que atenderam às premissas distribuição normal e homogeneidade das variâncias foram comparadas pelo teste t de Student. Os demais dados foram avaliados pelo teste U de Mann-Whitney para amostras independentes (não paramétrico). O nível de significância utilizado foi de 0,05. Para as análises, foi utilizado o programa estatístico SPSS (Statistical Package of Social Science), versão 20.0 para Windows.

Como base teórica para a pesquisa, foi realizada uma revisão de literatura a respeito do tema, inicialmente tratando sobre a constituição sanguínea no que diz respeito a seus elementos, seguindo para uma abordagem sobre a fragilidade característica das hemácias da espécie caprina e, posteriormente, para uma revisão sobre técnicas de exames hematológicos. Seguiu-se, então, para o artigo científico, no qual foram apresentados a metodologia utilizada, os resultados e a discussão, com as considerações finais sobre a pesquisa.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do método de colheita de sangue, a vácuo e por gravidade, sobre parâmetros hematológicos de caprinos adultos da raça Saanen, utilizando, para cada método, um calibre específico de agulha.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar se o método de colheita de sangue, a vácuo e por gravidade, com calibres específicos de agulha, interfere no eritrograma de caprinos da raça Saanen;
- Analisar se o método de colheita de sangue, a vácuo e por gravidade, com calibres específicos de agulha, interfere no leucograma de caprinos da raça Saanen;
- Analisar se o método de colheita de sangue, a vácuo e por gravidade, com calibres específicos de agulha, interfere nos valores de proteínas plasmáticas totais de caprinos da raça Saanen.

3 CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

A compreensão da fisiologia sanguínea é essencial para a medicina veterinária, especialmente no que diz respeito às particularidades das espécies. O sangue é um tecido conjuntivo com características e funções únicas, composto pelo plasma, parte líquida, e por glóbulos como hemácias, leucócitos e plaquetas (Carneiro; Junqueira, 2008). Cada um desses elementos desempenha um papel específico e fundamental para a manutenção da saúde, como transporte de nutrientes, oxigenação dos tecidos, defesa imunológica e hemostasia (Barger; Macneill, 2015).

Exames hematológicos, como o hemograma, fornecem informações importantes sobre a quantidade e a qualidade das hemácias, leucócitos e plaquetas, permitindo a detecção de anemias, infecções e outras condições patológicas (Barger; Macneill, 2015). No entanto, a interpretação desses exames deve ser feita com cautela, considerando-se as particularidades da espécie e os fatores que podem influenciar os resultados, como a técnica de colheita e o manuseio das amostras (Newcomer *et al.*, 2021).

Os caprinos apresentam características hematológicas peculiares que os diferenciam de outras espécies. A fragilidade osmótica das hemácias caprinas, por exemplo, é um aspecto importante a ser considerado, pois essas células são mais susceptíveis à hemólise, o que repercute em uma necessidade de atenção a aspectos relacionados a colheita e análise de amostras sanguíneas (Newcomer *et al.*, 2021). Essa fragilidade pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo a composição da membrana celular, a idade, o estado nutricional e as condições ambientais (Igbokwe, 2018; Khalid, 2020).

Diante do exposto, objetivou-se com essa revisão de literatura oferecer uma visão abrangente sobre o estado atual do conhecimento na área de hematologia voltada para a espécie caprina. Para tanto, foi realizada uma revisão sobre a constituição sanguínea de animais, no que diz respeito a seus elementos, seguindo para uma análise sobre fatores relacionados a fragilidade de eritrócitos e, por fim, para uma abordagem sobre aspectos relacionados a técnicas de exames hematológicos, incluindo particularidades destes na espécie caprina.

3.1 CONSTITUIÇÃO SANGUÍNEA: CARACTERÍSTICAS E FUNÇÕES DOS ELEMENTOS FIGURADOS E CONSTITUINTES PLASMÁTICOS

O sangue é um tecido conjuntivo composto por uma parte líquida, o plasma, e pelos glóbulos sanguíneos: hemácias, leucócitos e plaquetas (Carneiro; Junqueira, 2008). O plasma é

composto por água, proteínas e outras moléculas como sais, vitaminas, carboidratos e lipídeos. Quanto às funções das células, as hemácias realizam transporte de gases sanguíneos, os leucócitos atuam na defesa imunológica do organismo, e as plaquetas atuam no processo de hemostasia (Barger; Macneill, 2015).

O sangue transita pelo organismo através do sistema circulatório, impulsionado pelas contrações rítmicas do coração, percorrendo artérias, capilares e veias (Carneiro; Junqueira, 2008). A função primária do sangue é a de transporte de nutrientes, gases e hormônios, fundamentais para o metabolismo celular (González; Silva, 2008). O oxigênio é transportado dos pulmões para os tecidos ligado à hemoglobina presente nos eritrócitos, enquanto o dióxido de carbono é transportado dos tecidos para os pulmões, ligado à hemoglobina e outras proteínas eritrocitárias, ou dissolvido no plasma (Carneiro; Junqueira, 2008). Além disso, o sangue desempenha um papel fundamental na termorregulação (Silva, 2017) e no transporte de produtos oriundos do metabolismo celular para os órgãos excretores (González; Silva, 2008).

A volemia, que diz respeito ao volume sanguíneo total, corresponde a aproximadamente 7,5% do peso corporal, sendo variável de acordo com a espécie, idade e equilíbrio hídrico do organismo. A hipovolemia ocorre quando há uma diminuição do volume sanguíneo, como em casos de hemorragia, desidratação e alterações renais. Em contrapartida, a hipervolemia pode resultar de fatores como administração inadequada de fluidos ou retenção de líquidos e sódio (Silva, 2017).

As células têm um tempo de vida limitado e, portanto, para que se mantenham em quantidades adequadas na circulação, é necessário que haja constante produção e liberação de novas células na corrente sanguínea, a partir do processo denominado hematopoiese (Reagan; Rovira; DeNicola, 2008). Tal processo inicia-se na fase embrionária, a partir do saco vitelínico. No início da fase fetal, os principais locais de produção de células sanguíneas passam a ser o fígado, o baço e a medula óssea, e posteriormente, na segunda fase de desenvolvimento fetal, a medula óssea e os órgãos linfóides (González; Silva, 2008; Weiss; Wardrop, 2010).

Após o nascimento e na fase adulta, o processo passa a ocorrer principalmente a partir da medula óssea. No entanto, em situações de demanda aumentada, essa produção pode ocorrer também no baço, fígado e linfonodos pela hematopoiese extramedular. As células sanguíneas na medula óssea têm origem em uma célula-tronco comum, pluripotente, que dá origem a células precursoras específicas, correspondentes a cada etapa do processo. Dela partem a linhagem linfóide, da qual serão gerados os linfócitos (T, B e células *natural killers*), e a linhagem mieloide, da qual serão gerados os eritrócitos, os demais leucócitos (granulócitos e monócitos) e os megacariócitos (que geram plaquetas) (Reagan; Rovira; DeNicola, 2008).

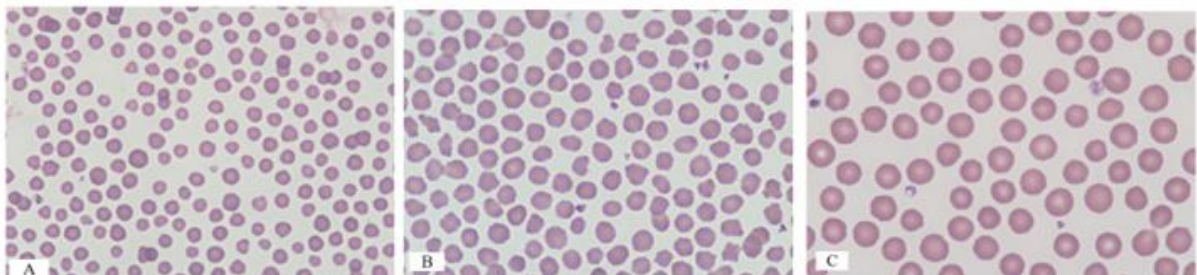
3.1.1 Série vermelha: hemácias

As hemácias, eritrócitos ou glóbulos vermelhos são as células sanguíneas mais abundantes, representando aproximadamente 40% do volume globular. Compõem-se por cerca de 61% de água, 32% de proteínas (principalmente hemoglobina), 7% de carboidratos e 0,4% de lipídios. A membrana eritrocitária é composta por aproximadamente 20% de água, 40% de proteínas, 35% de lipídios e 6% de carboidratos. Nos mamíferos, as hemácias maduras são anucleadas e carecem de organelas, o que impossibilita a síntese de proteínas (Weiss; Wardrop, 2010).

A principal função das hemácias é o transporte de oxigênio dos pulmões para os tecidos, mediado pela hemoglobina, o que possibilita que ocorra o metabolismo oxidativo (Barger; Macneill, 2015). Desta forma, o direcionamento da energia dessas células à manutenção de sua membrana e de sua morfologia, às atividades enzimáticas e a outras funções essenciais tem como objetivo assegurar o fornecimento adequado de oxigênio aos tecidos (Weiss; Wardrop, 2010). As hemácias também fazem o transporte de dióxido de carbono dos tecidos para o pulmão, e auxiliam na manutenção do pH sanguíneo (Barger; Macneill, 2015).

Há variações nos tamanhos das hemácias de espécies mamíferas, e a maioria destas, como no caso dos ruminantes, apresenta hemácias com forma bicôncava, que maximiza a superfície de troca gasosa (Figura 1) (Reagan; Rovira; DeNicola, 2008). Características dos eritrócitos como tamanho, cor, morfologia e presença de inclusões devem ser avaliadas em esfregaços sanguíneos corados (Duncan; Prasse, 1982).

Figura 1 - Hemácias de diferentes espécies ruminantes



Fonte: Reagan; Rovira; DeNicola (2008). A – hemácias de caprino, B – hemácias de ovino, C - hemácias de bovino. Aumento com objetiva de 100x.

Em caprinos, o número de hemácias varia entre 8 e 17 milhões por microlitro de sangue, e a concentração de hemoglobina varia entre 8 e 12 g/dL (Newcomer *et al.*, 2021). Essas variações são influenciadas por fatores como idade, sexo, estado fisiológico e condições ambientais (Thrall *et al.*, 2015). As menores hemácias são observadas na espécie caprina

(Tabela 1) (Duncan; Prasse, 1982), enquanto a mais semelhante à hemácia humana é a canina (Thrall *et al.*, 2015).

Tabela 1 - Número, diâmetro e meia-vida das hemácias por espécie animal

Espécie	Número (milhões/μL)	Diâmetro (μm)	Meia-vida (dias)
Caprino	8-18	4,0	100
Ovino	9-15	4,5	100
Bovino	5-10	5,5	160
Equino	9-12	5,7	150
Felino	5-10	5,8	70
Suíno	5-8	6,0	65
Canino	6-8	7	120

Fonte: Adaptado de Duncan; Prasse (1982)

O hematócrito corresponde à proporção do volume de sangue ocupado pelas hemácias e é expresso em porcentagem. Pode ser calculado por microtécnica ou em aparelho automatizado (Ayres, 1994). Constitui um importante indicador da capacidade de transporte de oxigênio do sangue, sendo sua avaliação essencial para o diagnóstico e monitoramento de diversas condições clínicas (Barger; Macneill, 2015). Pode ser influenciado por fatores como desidratação, anemia e policitemia. Em caprinos, o hematócrito varia entre 22% e 36% (Newcomer *et al.*, 2021).

O tamanho médio das hemácias é estimado por meio do Volume Globular Médio (VGM) ou Volume Corpuscular Médio (VCM), um índice hematimétrico importante para auxiliar no diagnóstico das causas e classificações das anemias. Calcula-se a partir do hematócrito e da contagem de hemácias, através da fórmula: $VCM = (Htc/hemácias) \times 10$. O volume celular é inversamente proporcional ao número de hemácias, desta forma, espécies com valores mais baixos de VCM, como os caprinos, possuem um número maior de eritrócitos (Harvey, 2001; Silva, 2017; Thrall *et al.*, 2015).

As hemácias podem ser classificadas como normo, micro ou macrocíticas. Hemácias normocíticas têm o VCM dentro do intervalo de referência para a espécie, como no caso dos caprinos com VCM entre 16 e 25 fL (Newcomer *et al.*, 2021). A microcitose tem como principal causa a deficiência de ferro. Neste caso, células precursoras de hemácias recorrem a um processo contínuo de divisão celular que resulta em hemácias de tamanho reduzido, levando a concentrações de hemoglobina mais próximas do normal. Na macrocitose há predominância de

hemácias grandes, o que eleva os valores de VCM. Esta condição pode ser causada pela maior liberação de células imaturas, na regeneração, ou por deficiências vitamínicas, como de Vitamina B12 ou folatos (Thrall *et al.*, 2015). A anisocitose, que corresponde a variações no tamanho das hemácias no esfregaço sanguíneo, é comum em anemias regenerativas e ferroprivas, onde pode-se observar uma combinação de hemácias de tamanhos normais e macro ou microcíticas, respectivamente (Silva, 2017).

A anemia relaciona-se a uma redução no valor total de hemácias, no hematócrito e/ou na concentração de hemoglobina (Hb). Pode ser classificada de acordo com a capacidade de regeneração medular (regenerativa ou não regenerativa), com os valores de VCM, de concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e com o mecanismo patofisiológico envolvido (Quadro 1) (Silva, 2017).

O número de eritrócitos pode se apresentar reduzido por perdas em casos de hemorragia, por destruição (hemólise), ou por diminuição em sua produção. A classificação da anemia pela resposta medular considera a distinção entre esses processos. Nas anemias regenerativas, a medula óssea responde à anemia, verificando-se na circulação a presença de eritrócitos imaturos, macrocitose, hipocromasia e policromasia. Nas não regenerativas, não se verifica essa resposta eritropoiética, devido a fatores como deficiência de ferro, inflamações crônicas, falência renal, anemia aplásica e endocrinopatias (Barger; Macneill, 2015).

Quadro 1 - Interpretação clínica de parâmetros hematológicos eritrocitários

VCM	CHCM	Interpretação Clínica
Normocítica	Normocrômica	Não regenerativas, anemias das doenças crônicas.
Normocítica	Hipocrômica	Início da deficiência de ferro.
Macroscítica	Hipocrômica	Anemias regenerativas, hemorragia e hemólise.
Macroscítica	Normocrômica	Deficiência de vitamina B12, folatos, cobalto em ruminantes, Mielose eritrêmica,
Microscítica	Normocrômica	Deficiência de ferro.
Microscítica	Hipocrômica	Deficiência de ferro, cobalto e vitamina B6. Perda de sangue crônica.

Fonte: Adaptado de Silva (2017).

A anemia não associada à perda ou destruição de eritrócitos geralmente decorre de uma produção inadequada de células sanguíneas, sendo, portanto, não regenerativa (Barger; Macneill, 2015). Apresenta como causa mais comum a presença de doenças crônicas, no entanto, podem ocorrer formas leves dessa condição em ovelhas e cabras prenhes, com deficiência de minerais essenciais como ferro, selênio, cobre e zinco (Pugh *et al.*, 2020).

As anemias podem ainda ser classificadas como absoluta (verdadeira), ou relativa, quando ocorre uma falsa redução na contagem total de hemácias, hematócrito e concentração de hemoglobina devido a hemodiluição, que leva a aumento de volume plasmático, sendo observada em animais prenhes, lactantes, filhotes e em casos de administração de fluidos (Silva, 2017).

O processo de maturação de novas hemácias denomina-se eritropoiese e, na fase adulta, parte principalmente da medula óssea. A partir da linhagem mieloide, sucede-se uma série de tipos celulares que passam por mudanças a cada etapa do processo de diferenciação de células eritroides. Partindo dos rubriblastos, essas células precursoras passam por uma sequência de diferenciações, progressivamente diminuindo de tamanho e apresentando concentrações mais altas de hemoglobina. Os rubriblastos dividem-se em pró-rubríctos, que dão origem aos rubríctos, os quais apresentam cromatina mais condensada e irão sofrer divisões e diferenciar-se em metarrubríctos. A partir desse estágio, a maturação prossegue com a expulsão do núcleo picnótico e a produção de reticulócitos, última etapa antes da formação de hemácias maduras (Reagan; Rovira; DeNicola, 2008). Os reticulócitos circulantes se apresentam em diferentes quantidades de acordo com a espécie. Em caprinos, ovinos e bovinos, apresentam-se apenas durante resposta regenerativa (Weiss; Wardrop, 2010).

Quanto à hemólise ou destruição de eritrócitos *in vivo*, esta pode ser intra ou extravascular, com causas intrínsecas, como deficiências de membrana ou de enzimas hereditárias, e extrínsecas, como em casos de hemoparasitoses ou destruição imunomediada. A hemólise intravascular ocorre no interior dos vasos sanguíneos, enquanto a extravascular envolve a fagocitose de eritrócitos anormais por macrófagos, geralmente no baço ou fígado (Thrall *et al.*, 2015). Em ruminantes, são causas comuns de hemólise as intoxicações por plantas, deficiências de minerais, como cobre e fósforo, e hemoparasitoses, como infecções por *Anaplasma marginale*, *Babesia spp.* e *Trypanosoma spp.* (Roland; Drillich; Iwersen, 2014).

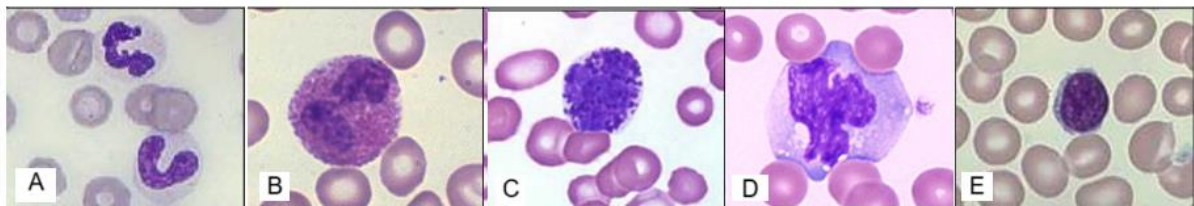
3.1.2 Série branca: leucócitos

Os leucócitos, ou glóbulos brancos, são componentes fundamentais do sistema imunológico, atuando tanto na resposta imune inata quanto específica (Silva, 2017). Apresentam-se em diferentes subtipos: neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos. São produzidos e maturados na medula óssea, com a maturação de linfócitos T ocorrendo no timo (Roland; Drillich; Iwersen, 2014). Em caprinos, a contagem total de leucócitos no sangue varia entre 4.000 e 13.000 células por microlitro (Newcomer *et al.*, 2021),

e a distribuição dos tipos de leucócitos pode ser alterada por fatores como a condição clínica do animal e a presença de infecções ou processos inflamatórios (Thrall *et al.*, 2017). Leucócitos marginais encontram-se no revestimento endotelial dos vasos sanguíneos, podendo se desprender e se juntar aos leucócitos circulantes em casos de aumento de pressão sanguínea, modificando a contagem leucocitária (Roland; Drillich; Iversen, 2014).

Os leucócitos podem ser classificados em duas grandes categorias: polimorfonucleares (granulócitos) e mononucleares (agranulócitos). Os granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) apresentam núcleo segmentado e grande quantidade de grânulos citoplasmáticos. Por sua vez, os agranulócitos (monócitos e linfócitos) apresentam quantidade consideravelmente inferior de grânulos e apresentam núcleo arredondado, em formato de rim ou ameboide (Figura 2) (González; Silva, 2008; Harvey, 2001).

Figura 2 – Tipos de leucócitos



Fonte: González; Silva (2008). A – Neutrófilos, B – Eosinófilo, C – Basófilo, D – Monócito, E – Linfócito.

Os neutrófilos desempenham um papel crucial na resposta inflamatória, migrando para os locais de inflamação por meio de quimiotaxia positiva e desempenham atividades de defesa, incluindo fagocitose e degradação de patógenos. Seus lisossomos se fundem aos fagossomos, permitindo a destruição de microrganismos por meio de digestão enzimática (Thrall *et al.*, 2015). Atuam principalmente em infecções bacterianas, combatendo também fungos, algas, parasitas e vírus (Silva, 2017).

Os neutrófilos possuem uma morfologia característica, com núcleos polimórficos que variam conforme o estágio de maturação: o metamielócito neutrofilico não é encontrado no sangue normal, enquanto os neutrófilos bastonetes possuem núcleos em formato de bastão e podem aparecer em pequenas concentrações em sangue normal. Já os neutrófilos segmentados, maduros, possuem núcleos divididos em 3 a 5 lobos (Figura 2.A) (González; Silva, 2008). O diâmetro dos neutrófilos varia de 10 a 12 μm . Quando corados, os diversos grânulos citoplasmáticos apresentam-se com coloração discreta, normalmente adquirindo um tom rosa-alaranjado em bovinos (Reagan; Rovira; DeNicola, 2008).

Os eosinófilos (acidófilos) são ausentes ou encontrados em quantidades muito baixas em animais saudáveis. Morfologicamente se assemelham aos neutrófilos, apenas com tamanho um

pouco maior, e com núcleo bastante segmentado. A morfologia dos grânulos dos eosinófilos varia conforme a espécie, sendo nos ruminantes, esféricos e uniformes (Reagan; Rovira; DeNicola, 2008). Quando corados, adquirem coloração azulada com grânulos vermelhos ou alaranjados (Figura 2.B) (González; Silva, 2008).

As funções dos eosinófilos são várias, ainda que pouco compreendidas. Eles desempenham um importante papel no controle de reações alérgicas, além de apresentarem certa capacidade fagocítica e de ativarem etapas do mecanismo de coagulação. Têm também ação contra parasitos, realizando a degranulação após ligarem-se a estes. A eosinofilia periférica ocorre em quadros de alergia e de parasitismo, enquanto a eosinopenia absoluta ocorre em condições de estresse (Voigt; Swist, 2011).

Os basófilos, assim como os eosinófilos, estão presentes em baixa quantidade no sangue periférico, sendo raramente observados em esfregaços sanguíneos, e atuam em processos alérgicos e inflamatórios. Seus grânulos contêm histamina, heparina, serotonina, peroxidases, dentre outras enzimas relacionadas à resposta inflamatória. Sua atuação, através da degranulação, está relacionada à sensibilidade de seus receptores de membrana a substâncias como prostaglandinas, imunoglobulinas e histamina, bem como a alérgenos, como poeira e fungos (Voigt; Swist, 2011).

Os basófilos apresentam tamanho maior do que os neutrófilos, e núcleo segmentado. A morfologia de seus grânulos também varia conforme a espécie. Em animais de grande porte, possuem grânulos violeta-escuros, frequentemente em grande quantidade, podendo ocultar partes do núcleo, com o citoplasma apresentando uma coloração levemente arroxeadada (Figura 2.C) (González; Silva, 2008; Thrall *et al.*, 2015).

Os monócitos realizam fagocitose de materiais estranhos, tecidos danificados e células cancerígenas, além de atuarem na regulação da resposta imune, apresentando antígenos aos linfócitos T e participando da destruição de eritrócitos (Silva, 2017). Diferenciam-se em macrófagos nos tecidos periféricos, onde processam antígenos (Voigt; Swist, 2011).

São as maiores células leucocitárias, com citoplasma basofílico que se cora em tom de cinza-azulado, com presença de inúmeros vacúolos. Seu núcleo pode apresentar formas variadas, alongadas, arredondadas ou forma de rim (González; Silva, 2008; Voigt; Swist, 2011) (Figura 2.D). Devido à sua morfologia variável, podem ser confundidos no esfregaço sanguíneo com neutrófilos imaturos ou grandes linfócitos (Silva, 2017).

Os linfócitos são as células sanguíneas mais abundantes nos ruminantes. Apresentam núcleo arredondado, com pouco citoplasma, que se cora em azul claro, e são ligeiramente menores do que os neutrófilos (Figura 2.E). Em ruminantes, entretanto, há também a presença

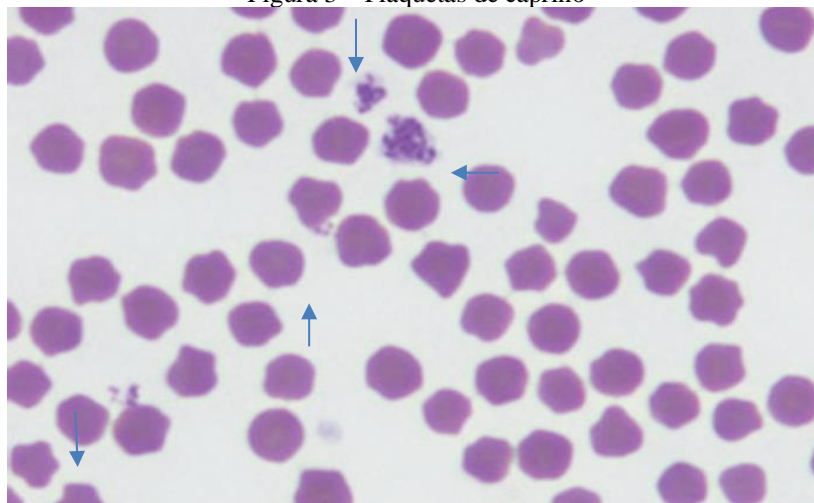
de grandes linfócitos (Reagan; Rovira; DeNicola, 2008). Linfócitos reativos, comumente identificados como células B produtoras de imunoglobulinas, apresentam citoplasma basofílico e núcleos irregulares. Linfócitos granulares, que contêm grânulos de coloração róseo-púrpura, são frequentemente encontrados em ruminantes e podem ser células T ou células *natural killers* (Thrall, 2015).

Linfócitos B atuam na imunidade humoral e linfócitos T, na imunidade celular e na resposta às citocinas, dividindo-se em células T indutoras, que apresentam o antígeno CD4, auxiliam e coordenam a resposta imune; e em T citotóxicas/supressoras, que apresentam o antígeno CD8 e são diretamente responsáveis pela destruição de células infectadas ou anormais. Há, ainda, uma terceira população de linfócitos, presente em pequenas quantidades, da qual fazem parte as células *natural killers* e os grandes linfócitos granulares (Thrall, 2015; Weiss; Wardrop, 2010).

3.1.3 Plaquetas

As plaquetas, ou trombócitos, são fragmentos citoplasmáticos derivados dos megacariócitos da medula óssea, apresentando formato de disco plano (Figura 3) e várias organelas (Weiss; Wardrop, 2010). Desempenham um papel essencial na hemostasia primária, formando coágulos, com a função de interromper temporariamente o sangramento após lesão no leito vascular. Além disso, contribuem para a modulação da resposta inflamatória e cicatrização de feridas (Thrall *et al.*, 2015; Voigt; Swist, 2011).

Figura 3 – Plaquetas de caprino



Fonte: Weiss; Wardrop (2010). As células redondas a ovais, anucleadas, de cor azul clara, com grânulos citoplasmáticos de cor rosa a roxa, são plaquetas (setas). Aumento com objetiva de 100x.

Cerca de 30% das plaquetas permanecem dentro do baço durante repouso. Na maioria das espécies de mamíferos, as plaquetas permanecem na circulação por um período de 5-9 dias, sendo então removidas pelos macrófagos do baço e do fígado (Weiss; Wardrop, 2010). Em caprinos, os valores de normalidade para contagem de plaquetas são de 2,8 a 6,4 milhões por microlitro (Newcomer *et al.*, 2020). A trombocitopenia corresponde à diminuição dos níveis de plaquetas circulantes, e é o distúrbio de coagulação adquirido mais comum na medicina veterinária (Weiss; Wardrop, 2010). Pode ocorrer devido à diminuição da produção, ao aumento da destruição ou do consumo, ou à perda de plaquetas (Barger; Macneill, 2015).

A trombocitose, aumento nos níveis de plaquetas circulantes, é menos frequente, podendo ocorrer por fatores fisiológicos, como a contração esplênica, mediada por epinefrina, ou patológicos, como inflamação ou hemorragia. Na trombocitose primária ocorre proliferação neoplásica de precursores plaquetários, enquanto a secundária (reativa), ocorre principalmente por estimulação da medula óssea ou diminuição da atuação dos macrófagos do baço sobre as plaquetas. A pseudotrombocitose é decorrente de erros laboratoriais de contagem, quando fragmentos de outros tipos celulares são confundidos com plaquetas (Weiss; Wardrop, 2010).

3.1.4 Proteínas plasmáticas totais

As proteínas plasmáticas totais (PPT) são um conjunto de proteínas presentes no plasma sanguíneo, incluindo albumina, globulinas e fibrinogênio. Essas proteínas desempenham funções vitais, como manutenção da pressão osmótica, transporte de substâncias e defesa imunológica. Alterações nos níveis de PPT podem indicar problemas de saúde, como desidratação, inflamação ou doenças hepáticas (Voigt; Swist, 2011). Em caprinos, a concentração de PPT varia entre 6,0 e 7,5 g/dL (Newcomer *et al.*, 2021).

A albumina é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo, sendo responsável pelo transporte de várias substâncias e pela manutenção da pressão oncótica. As globulinas são divididas em várias frações, como α 1-globulinas, α 2-globulinas, β -globulinas e γ -globulinas, que desempenham papéis importantes no sistema imunológico, além de auxiliarem no transporte de lipídios e hormônios. O fibrinogênio é uma proteína essencial para a coagulação sanguínea (González; Silva, 2008, Weiss; Wasrdrop, 2010).

As proteínas de fase aguda constituem um grupo de glicoproteínas cuja concentração plasmática aumenta ou diminui em resposta a condições inflamatórias. As que têm sua concentração aumentada, como fibrinogênio, proteína C-reativa e haptoglobina são

classificadas em positivas; já as que têm sua concentração diminuída, como pré-albumina, albumina e transferrina classificam-se como negativas (Kaneko; Harvey; Bruss, 1997).

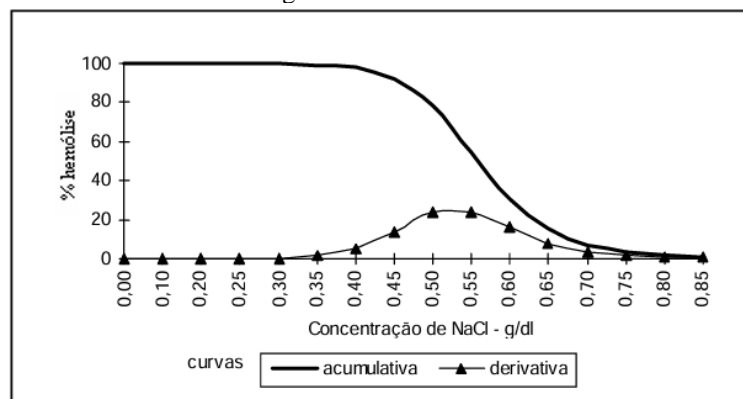
A anemia pode ser analisada em conjunto com os valores de PPT. Aumentos nesses valores podem indicar desidratação, com redução do volume plasmático, o que requer interpretação dos índices eritrocitários considerando esta condição. Em casos de hemorragia, há perda concomitante de proteínas plasmáticas. Por outro lado, nas anemias hemolíticas, a concentração de PPT pode não apresentar alterações significativas (Silva, 2017).

3.2 FATORES RELACIONADOS À FRAGILIDADE DE ERITRÓCITOS

A fragilidade dos eritrócitos refere-se à susceptibilidade dessas células à hemólise (Khalid, 2020; Thrall *et al.*, 2015). Diversos fatores podem influenciar os processos biológicos que causam variabilidade nesse fenômeno, como a composição da membrana celular, o transporte de íons, a ação das aquaporinas, a peroxidação lipídica e a eriptose (Igbokwe, 2018).

A resistência dos eritrócitos pode ser testada através do teste de fragilidade osmótica eritrocitária (FOE), que consiste na exposição das hemácias a soluções de diferentes concentrações de NaCl (Figura 4). Apesar de não ser utilizado rotineiramente devido à sua complexidade, o teste constitui uma medida importante para avaliar a integridade e a resistência das membranas eritrocitárias, especialmente em casos em que outros exames não sejam claramente interpretáveis (Thrall *et al.*, 2015). Comumente tem-se o início da hemólise a NaCl 0,5%, e a hemólise completa a NaCl 0,3%, sendo a concentração que causa hemólise em 50% das hemácias indicativa da fragilidade corpuscular média (FCM). O teste é utilizado para diagnosticar condições como anemias hereditárias, avaliar a adaptabilidade dos eritrócitos a diferentes graus de estresse e monitorar a saúde geral dos animais (Khalid, 2020).

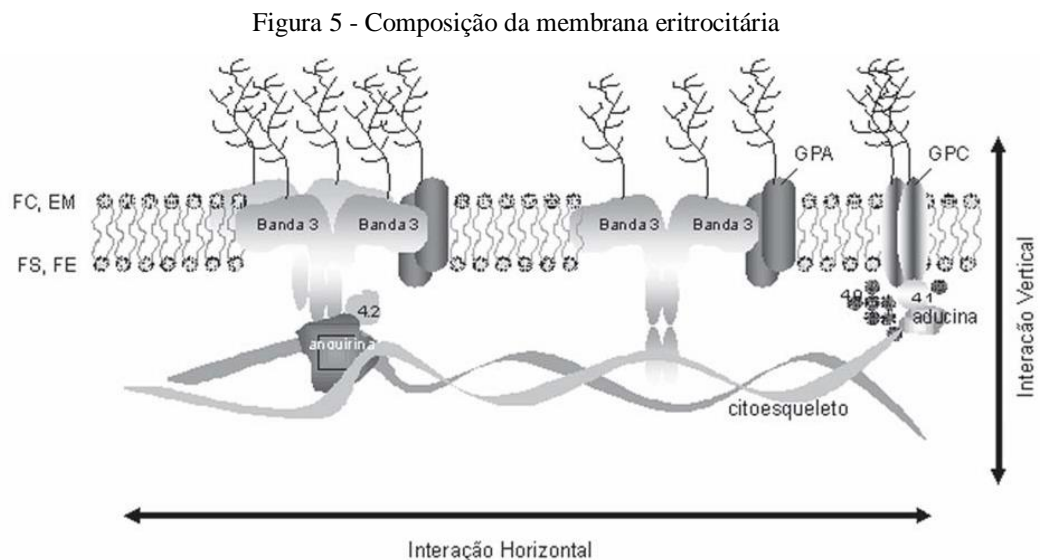
Figura 4 – Curvas acumulativa e derivativa da fragilidade osmótica dos eritrócitos de fêmeas bovinas sadias



Fonte: Sant'Ana *et al.* (2001).

A estrutura e a composição da membrana eritrocitária influenciam sua maleabilidade e resistência. A integridade da membrana é crucial para a função das hemácias, e defeitos em sua estrutura podem levar a uma maior fragilidade, resultando em hemólise (Cooper, 1997; Igbokwe, 2018). Murador e Deffune (2007) destacam a importância de proteínas de membrana, como banda 3, glicoforinas e espectrina, na manutenção da estabilidade e flexibilidade das hemácias, especialmente sob condições de estresse mecânico.

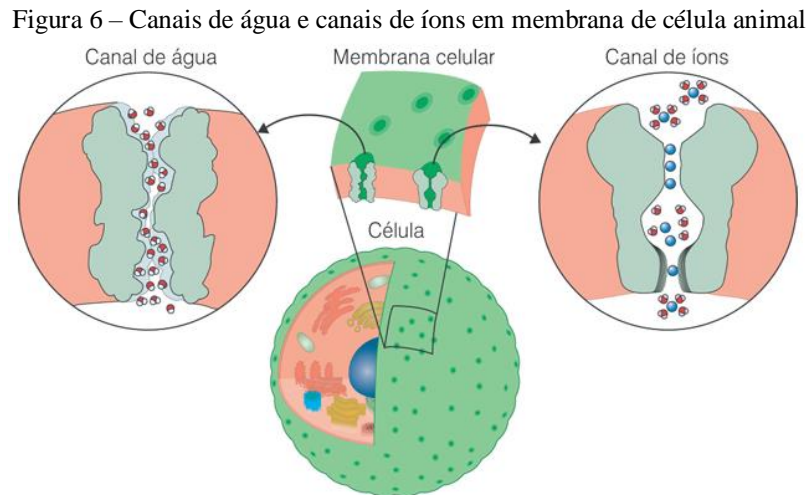
A membrana eritrocitária é composta por uma bicamada lipídica que inclui fosfolipídios, colesterol e proteínas integrais e periféricas (Figura 5). As principais proteínas integrais incluem a banda 3, que tem papel importante na conformação eritrocitária e medeia a troca de cloro e ânions de bicarbonato (Wong, 2004); e a glicoforina A, que atua nas propriedades mecânicas da membrana e contribui para manutenção da carga negativa na superfície do eritrócito. A espectrina, a actina e a proteína 4.1R formam o citoesqueleto da membrana, proporcionando estabilidade e flexibilidade às hemácias (Cooper, 1997; Murador e Deffune, 2007).



Fonte: Murador, Deffune (2007). FC= Fosfatidilcolina; EM= Esfingomielina; FS= Fosfatidilserina; FE= Fosfatidiletanolamina; GPA= Glicoforina A e GPC= Glicoforina C

Há, ainda, diversas outras proteínas de membrana que atuam na resistência eritrocitária. As aquaporinas, por exemplo, são canais de água essenciais para a regulação do volume celular e da pressão osmótica, permitindo o transporte seletivo de água, enquanto bloqueiam a passagem de íons e outras moléculas. Já os canais de íons permitem o movimento de íons através das membranas, sendo fundamentais para a geração de sinais elétricos (Figura 6). O equilíbrio de água e íons, por sua vez, é regulado por proteínas como a ATPase- Na^+/K^+ e a ATPase- Ca^{2+} , que controlam o transporte de íons e o equilíbrio osmótico. Tais mecanismos são

essenciais para a manutenção da integridade das hemácias, e disfunções em seu funcionamento podem causar diversos desequilíbrios, predispondo a lesões nessas células (Carli; Pereira, 2019; Litwack, 2020; Rocha-Filho, 2003).



Fonte: Rocha-Filho, 2003.

As aquaporinas, bem como os canais de íons, não gastam ATP para transportar moléculas de água e íons, respectivamente, através da membrana. Eles permitem a passagem rápida e seletiva por meio de um processo passivo, seguindo o gradiente de concentração. No entanto, as bombas de íons, como a ATPase Na^+/K^+ e a ATPase- Ca^{2+} , transportam íons contra o gradiente de concentração e requerem ATP para funcionar. Dessa forma, processos que restrinjam a disponibilidade de ATP podem influenciar no equilíbrio osmótico, alterando assim a resistência eritrocitária (Carli; Pereira, 2019; Litwack, 2020; Murador; Deffune, 2007; Rocha-Filho, 2003).

Diversos outros fatores podem afetar a fragilidade dos eritrócitos, podendo ser divididos em intrínsecos, como idade, sexo, raça, espécie, gravidez e fatores genéticos; e extrínsecos, como nutrição, agentes químicos, doenças, transporte, temperatura, meios de incubação e anticoagulantes (Igbokwe, 2018).

3.2.1 Fatores intrínsecos que afetam a fragilidade eritrocitária

Em estudo comparativo da fragilidade osmótica de eritrócitos em meio salino, incluindo Cabras Pequenas do Oeste Africano, Ovelhas Camaronesas e bovinos da raça White Fulani, verificou-se que os eritrócitos caprinos apresentaram maior, e os bovinos menor fragilidade osmótica, com os ovinos apresentando valores intermediários. Os autores associam a FOE ao

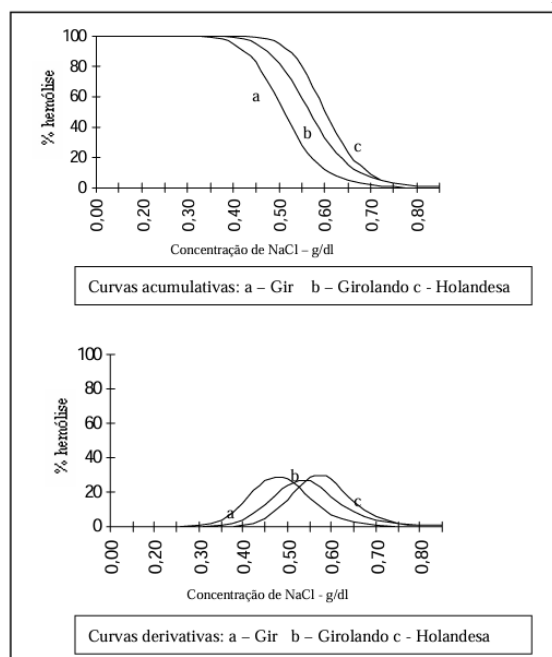
volume dos eritrócitos, observando que os caprinos possuem menor VCM e, conseqüentemente, menor resistência à lise osmótica em solução hipotônica (Olusanya; Adepoju, 1979).

Al-Qawari e Mousa (2004) verificaram que o perfil lipídico e proteico das membranas das hemácias de camelos era consideravelmente distinto em comparação com o de ovelhas e cabras, não sendo observadas diferenças significativas entre essas duas espécies. Nas membranas eritrocitárias dos camelos, os níveis dos fosfolipídios fosfatidilcolina e esfingomiéline, de colesterol e de proteínas eram significativamente superiores aos encontrados nas ovelhas e cabras. Os autores interpretaram que os achados podem estar associados à maior resistência dos eritrócitos dos camelos.

Fairley, Prince e Meuten (1988), por sua vez, compararam a resistência de eritrócitos de caprinos Pígmios e Toggenburg, com os primeiros demonstrando estatisticamente maior fragilidade. No entanto, não houve diferenças significativas no tamanho ou formato das células, nem na concentração de ATP entre as raças. As diferenças observadas nos testes foram atribuídas a possíveis variações na composição das membranas celulares dos eritrócitos.

Ainda em estudo comparativo entre raças, Sant'Ana *et al.* (2001) identificaram variações significativas na fragilidade dos eritrócitos de vacas Holandesas, que apresentaram eritrócitos mais frágeis; Gir, mais resistentes; e Girolandas com uma resistência intermediária à hemólise (Figura 7). Os autores sugerem que tais diferenças na FOE podem ser atribuídas a fatores raciais específicos, como a composição da membrana dos eritrócitos e a adaptabilidade das raças às condições ambientais.

Figura 7 – Fragilidade osmótica de eritrócitos de fêmeas bovinas das raças Gir, Girolando e Holandesa



Fonte: Santa'Ana *et al.* (2001).

Em estudo investigativo sobre a influência da idade e do sexo de caprinos Sahel sobre a FOE, não foram verificadas diferenças estatísticas entre os sexos, entretanto, a idade apresentou um impacto significativo, com maior fragilidade entre 1–1½ anos e menor após 1½–2 anos. O ganho de peso aumentou com a idade, especialmente na transição de <1 para 1–1½ anos. Os resultados sugerem que a alteração na estabilidade da membrana dos eritrócitos com a idade pode estar relacionada à ação dos hormônios de crescimento, que afetam o metabolismo lipídico e, conseqüentemente, a composição e a permeabilidade da membrana eritrocitária (Igbokwe; Ojo; Igbokwe, 2016).

Com relação às diferenças relacionadas ao sexo, o estudo de Igbokwe e colaboradores (2016) apresentou resultados discordantes dos de Habibu *et al.* (2014), que utilizou a FOE como biomarcador para avaliar o estresse oxidativo em cabras e bodes da raça Red Sokoto. Neste, os eritrócitos dos machos mostraram maior resistência quando comparados aos de cabras secas, prenhes e lactantes. Atribuiu-se a explicação à menor influência de hormônios sexuais femininos, como o estrogênio, que pode aumentar a susceptibilidade dos eritrócitos ao estresse osmótico devido à indução de hiperlipidemia e peroxidação lipídica. Além disso, não houve diferença no padrão de hemólise entre as cabras dos diferentes grupos, incluindo as de gestações simples e múltiplas. Sugeriu-se que o balanço energético negativo, e a estimulação da produção de espécies reativas, resulte em níveis mais altos de antioxidantes, ajudando os animais a lidar de forma mais eficaz com o estresse oxidativo.

Em estudo anterior, entretanto, a FOE de cabras Sahel variou significativamente de acordo com o estado fisiológico, diminuindo durante o terço final da gestação e aumentando durante a lactação. A pesquisa conclui que as diferenças ocorreram possivelmente devido a mudanças hormonais e metabólicas que alteraram a composição das membranas eritrocitárias. Durante a gestação tardia, a progesterona pode afetar a função das proteínas de membrana, contribuindo para maior estabilidade. Já durante a lactação, a prolactina eleva o conteúdo de sódio nas células, o que pode resultar no inchaço dos eritrócitos devido à difusão de água para seu interior. Apesar das diferenças na FOE, os índices eritrocitários, como o VCM e a contagem de eritrócitos, não variaram significativamente entre os grupos de cabras não prenhes, prenhes e lactantes (Igbokwe; Ojo; Igbokwe, 2015).

3.2.2 Fatores extrínsecos que afetam a fragilidade eritrocitária

Fatores relacionados à nutrição podem afetar a fragilidade das hemácias. De acordo com Thrall *et al.* (2015), a hipofosfatemia grave, com níveis de fósforo abaixo de 1 mg/dL, pode

causar hemólise em várias espécies. A redução do fósforo intracelular inibe a glicólise eritrocitária, afetando a enzima gliceraldeído fosfato-desidrogenase e diminuindo a produção de ATP nos eritrócitos, o que pode resultar em hemólise. Além disso, a condição pode reduzir os níveis de glutathione, aumentando a susceptibilidade a danos oxidativos. A hemoglobínúria pós-parto em vacas é uma das síndromes hemolíticas mais conhecidas associadas à hipofosfatemia (Thrall *et al*, 2015).

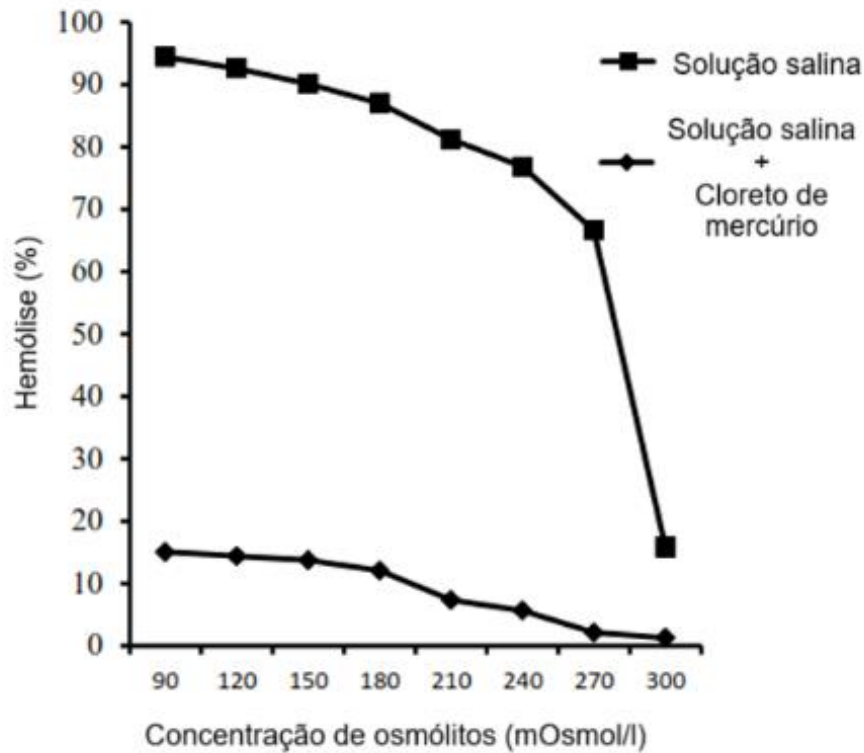
Em estudo conduzido por Rezaei e Dalir-Naghadeh (2009), observou-se que a deficiência aguda de selênio aumenta a FOE. Cordeiros com deficiência desse mineral apresentaram valores de fragilidade corpuscular média mais altos em comparação aos saudáveis. A deficiência reduz a atividade da enzima glutathione peroxidase (GSH-Px), levando ao aumento de malondialdeído (MDA), marcador de dano oxidativo, nos eritrócitos.

Alguns medicamentos conferem também influência na resistência eritrocitária. A capacidade de reversão *in vitro* de danos oxidativos na membrana de eritrócitos de caprinos, causados por fenilidrazina, substância utilizada em laboratório para induzir hemólise, bem como pela adição de Ca^{++} , foi observada através da adição de diltiazem, inibidor de canais de Ca^{++} (Das; Bhattacharyya, 2010).

Harisa e Badran (2015), estudaram os efeitos de nanocarreadores de simvastatina, medicamento utilizado para controle de hipercolesterolemia, sobre a hemólise e eriptose de hemácias humanas. A incubação das células com plasma enriquecido com colesterol provocou um aumento significativo na incorporação de colesterol, hemólise e eriptose comparativamente ao grupo controle. No entanto, na presença dos nanocarreadores de simvastatina, observou-se redução significativa nesses processos. Os resultados sugerem que essas moléculas podem oferecer proteção aos eritrócitos contra os efeitos nocivos da hipercolesterolemia, reduzindo a fragilidade das hemácias e prevenindo a hemólise.

Os efeitos citotóxicos de algumas substâncias nocivas, como metais pesados, podem ser avaliados através de análises laboratoriais. Igbokwe e colaboradores (2018) investigam como o cloreto de mercúrico afeta a estabilidade osmótica dos eritrócitos de cabras Sahel. Os resultados mostraram que a substância elevou a estabilidade dos eritrócitos em soluções salinas (Figura 8) e sacarídicas. No entanto, em altas concentrações de glicose e sacarose, causou desestabilização osmótica, possivelmente devido ao estresse oxidativo induzido pelo mercúrio e ao aumento da pressão osmótica.

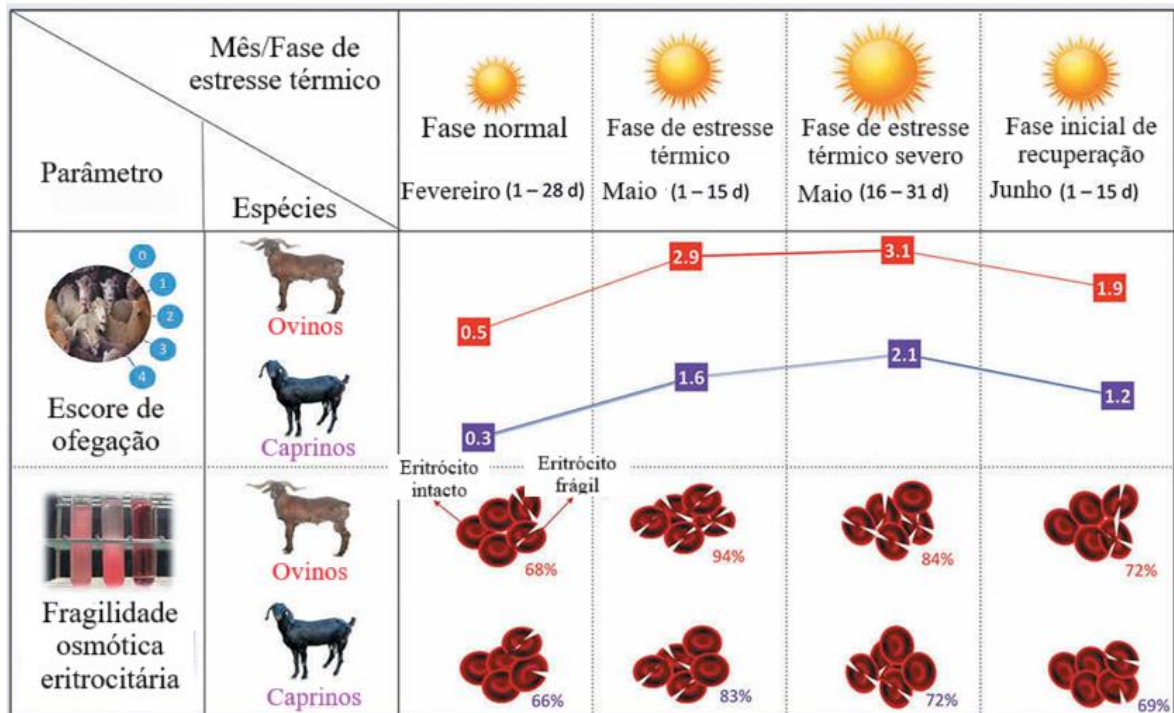
Figura 8 – Curva de fragilidade de eritrócitos caprinos em solução salina pura e em adição de cloreto de mercúrio



Fonte: Igbokwe *et al.* (2018).

Fatores relacionados a sazonalidade, temperatura e transporte também exercem influência na resistência ou fragilidade de eritrocitária. A FOE foi avaliada como indicador de estresse térmico e resiliência comparativamente entre caprinos e ovinos (Reddy *et al.*, 2019) e entre caprinos e bovinos (Adenkola; Agbendeh; Okpe, 2011). Em ambos os estudos, observou-se aumento da FOE durante o verão, com bovinos e ovinos apresentando maior fragilidade que caprinos. Quanto aos índices hematológicos, os bovinos apresentaram redução significativa na contagem de eritrócitos e hemoglobina no verão, enquanto caprinos e ovinos se recuperaram mais rapidamente. O aumento no VCM destes durante o período de calor mais intenso indica presença de eritrócitos jovens, mais resistentes (Figura 9) Os achados indicam que caprinos são mais resilientes ao estresse térmico, refletindo diferenças fisiológicas e adaptativas entre as espécies (Adenkola; Agbendeh; Okpe, 2011; Reddy *et al.*, 2019).

Figura 9 – Fragilidade eritrocitária de caprinos e ovinos em diferentes estações



Fonte: Adaptado de Reddy *et al.*, 2019.

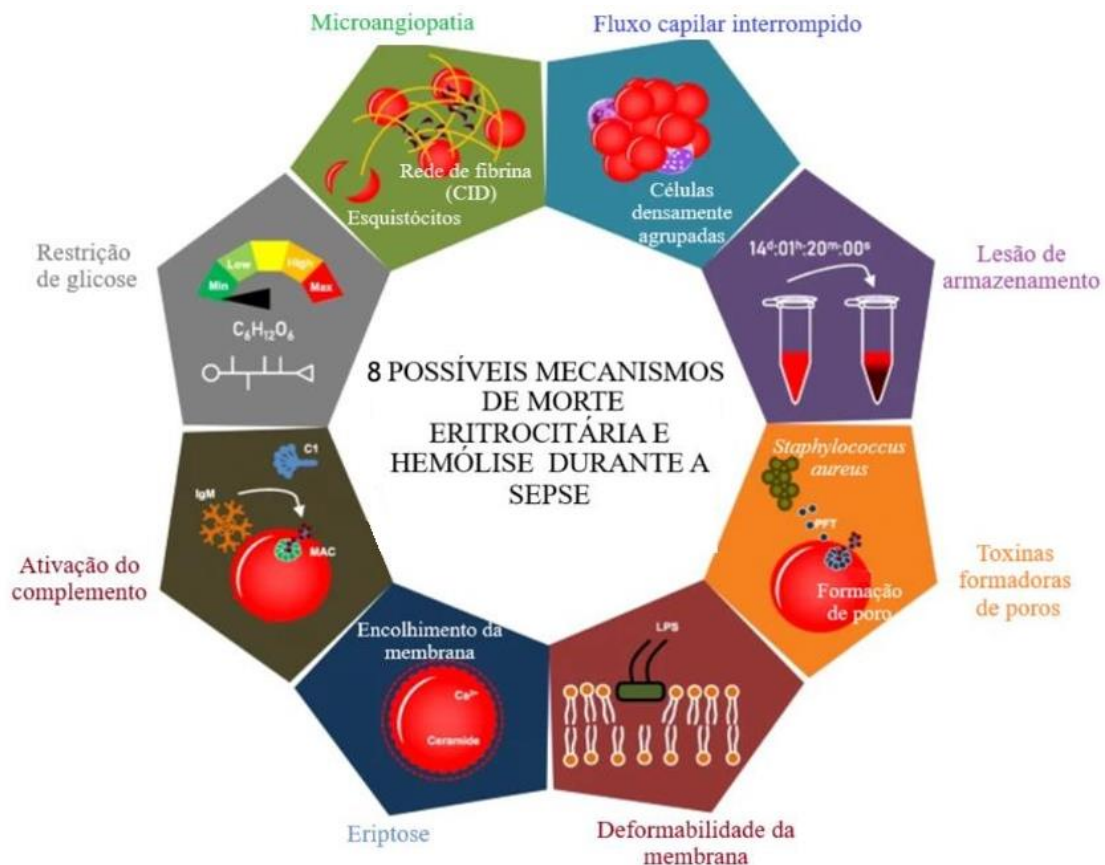
Minka e Ayo (2010) investigaram os efeitos de transporte rodoviário de 12 horas durante estação seca e quente sobre eritrócitos de cabras Red Sokoto, e o papel do ácido ascórbico (AA) na modulação desses efeitos. O transporte causou aumentos significativos na contagem de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina e FOE no grupo controle, enquanto o grupo que recebeu AA apresentou menores alterações. O aumento no hematócrito e no número de hemácias foi explicado pela excitação, com liberação de catecolaminas, que induziram contração esplênica. O AA, por ser um potente antioxidante, ajudou a neutralizar os radicais livres e espécies reativas de oxigênio, protegendo as membranas dos eritrócitos contra danos oxidativos e hemólise.

Oyewale (1991) avaliou os efeitos do pH e da temperatura sobre a FOE dos eritrócitos de cabras e ovelhas West African Dwarf. Os resultados mostraram maior susceptibilidade osmótica à hemólise dos eritrócitos caprinos do que os ovinos. Além disso, a FOE de ambas as espécies aumentou com a redução da temperatura, bem como com a redução do pH.

Diversas enfermidades podem elevar o risco de hemólise, tanto *in vivo* quanto *in vitro*. As hemoparasitoses, como babesiose e anaplasmose predispõem à anemia hemolítica, com a hemólise predominantemente intra e extravascular, respectivamente (Weiss; Wardrop, 2010). No entanto, em diversos quadros, vários mecanismos podem ser acionados, levando ao aumento da taxa de destruição de hemácias, como nos quadros de sepse. Effenberger-Neidnicht e Hartmann (2018) listam como os fatores relacionados a sepse em humanos que mais induzem

à hemólise: reações de transfusão, ativação do sistema complemento, coagulação intravascular disseminada (CID), fluxo parado nos capilares, restrição de glicose para as hemácias, alterações nas propriedades da membrana eritrocitária, patógenos hemolíticos e eriptose (Figura 10). A hemoglobina livre pode ser considerada um importante indicador do prognóstico nesses casos, segundo os autores.

Figura 10 – Mecanismos relacionados a sepse que podem induzir hemólise



Fonte: Adaptado de Effenberger-Neidnicht; Hartmann (2018).

Alguns fatores relacionados ao armazenamento de sangue para transfusão contribuem para a fragilidade eritrocitária. De acordo com Yoshida, Prudent e D'Alessandro (2019), lesões de armazenamento dos eritrócitos podem ser causadas por dois fatores principais: o acúmulo ou perda de metabólitos essenciais, afetando a viabilidade e função celular, e os danos oxidativos, que reduzem a eficiência na entrega de oxigênio. Para mitigar tais efeitos, podem ser usadas soluções aditivas. Os danos oxidativos têm sido abordados de forma mais sistemática nos últimos anos.

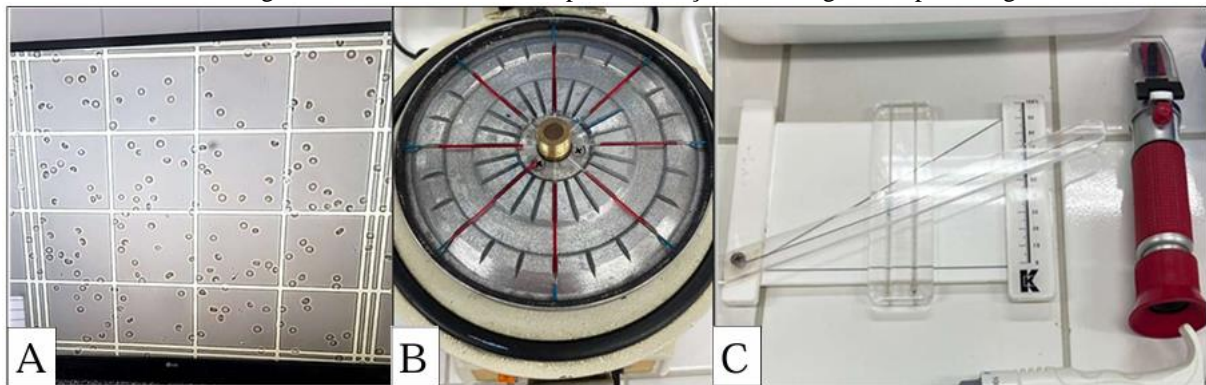
3.3 EXAMES HEMATOLÓGICOS E POSSÍVEIS FALHAS

Exames laboratoriais são de fundamental importância na prática clínica, uma vez que podem auxiliar no diagnóstico de distúrbios hematológicos e de diversas patologias, bem como na determinação do tratamento e do prognóstico do animal. Na rotina clínica, alguns desses exames costumam ser realizados com grande frequência, sendo os resultados essenciais para a instituição da terapêutica (Roland; Drillich; Iwersen, 2014; Whipple; Leissinger; Beaty, 2020).

O hemograma é o principal exame hematológico na rotina veterinária, constituído pelo eritrograma, que fornece informações importantes sobre os glóbulos vermelhos, as hemácias ou eritrócitos; pelo leucograma, que fornece informações sobre os glóbulos brancos, células de defesa; e pelo plaquetograma, que compreende a quantificação e a avaliação morfológica das plaquetas, importantes no mecanismo de coagulação. Os valores obtidos devem ser interpretados com base em tabelas de referência para cada espécie e em associação com a avaliação clínica do animal (Thrall, 2015). Para a maioria das espécies, esses exames podem ser feitos com uso do analisador automático, no entanto, esses aparelhos possuem certas limitações, como no caso de análises de sangue caprino. Desta forma, muitas dessas análises são feitas manualmente, de acordo com técnicas específicas (Polizopoulou, 2010).

O eritrograma constitui-se por contagem total de hemácias (milhões/mm³ ou 10⁶/μL), hematócrito (Ht) (%), concentração de hemoglobina (g/dL), volume corpuscular médio (VCM) (fL), concentração de hemoglobina corpuscular média (g/dL) e contagem de reticulócitos (%). Para essas análises, o sangue deve ser colhido em tubos contendo anticoagulante, como EDTA. Manualmente, a contagem total de hemácias pode ser feita com auxílio de hemocítômetro, segundo técnica específica de diluição (Figura 11.A), enquanto a contagem de reticulócitos pode ser feita por leitura de lâmina ao microscópio, com objetiva de 100x. O valor de hematócrito é obtido através de medição da proporção de sangue ocupada por eritrócitos em tubos capilares, após centrifugação, por microtécnica (Figura 11.B). O VCM pode ser obtido através de cálculos com base na contagem de eritrócitos e no valor de hematócrito (Silva, 2017; Thrall *et al.*, 2015).

Figura 11 – Técnicas manuais para realização de eritrograma e proteinograma



Fonte: Elaboradas pela própria autora. A - Retículo do hemocitômetro com hemácias (aumento de 40x), B - Microcentrífuga com tubos capilares, C - Régua para leitura de microhematócrito e refratômetro óptico para determinação de proteínas plasmáticas totais.

O leucograma constitui-se por contagem total de leucócitos (LT) e pela contagem diferencial, ambas podendo ser feitas, para a maioria das espécies, tanto em analisador automático quanto manualmente. Da mesma forma que no eritrograma, a contagem diferencial pode ser feita por leitura de lâmina ao microscópio com objetiva de 100x, e a contagem total com auxílio de hemocitômetro após diluição por técnicas específicas (Silva, 2017; Thrall *et al.*, 2015).

O proteinograma também é de grande relevância na avaliação do quadro dos pacientes, uma vez que fornece o teor proteico do plasma ou soro, relacionado principalmente ao aumento ou redução de globulinas ou albumina em quadros inflamatórios e infecciosos, dentre outros. Para detecção do teor de proteínas plasmáticas totais (PPT) por microtécnica, utiliza-se o plasma obtido por centrifugação de capilares contendo amostra de sangue com anticoagulante. Avalia-se, então, o teor de proteínas do plasma com auxílio de um refratômetro, obtendo-se os valores em g/dl (Figura 11.C) (Ayres, 1994; Pugh *et al.*, 2020; Thrall, 2015).

Devido às características das hemácias caprinas, que apresentam tamanho reduzido e maior fragilidade comparativamente às de outros animais, os exames hematológicos para essa espécie apresentam certas particularidades, com recomendações quanto aos métodos de colheita de sangue e limitações nos usos de analisadores automáticos (Ibrhim, 2014; Newcomer *et al.*, 2021).

De forma geral, exames laboratoriais devem ser executados com atenção às normas específicas, e os profissionais envolvidos em todo o processo devem conhecer as técnicas de colheita, transporte, armazenamento e processamento das amostras, evitando, dessa forma, erros que podem invalidar os resultados dos exames (Humann-Ziehank; Ganter, 2012; Whipple; Leissinger; Beatty, 2020).

3.3.1 Erros pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos em exames hematológicos

Apesar da importância dos exames laboratoriais na gestão de casos clínicos e na tomada de decisões, como escolha da terapêutica a ser instituída, diferentes tipos de erros podem ocorrer na medicina laboratorial, sendo classificados em pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos. Erros pré-analíticos, que ocorrem antes dos testes da amostra, são os mais comuns e incluem seleção e manuseio inadequados desta. Erros analíticos ocorrem durante os testes e podem envolver falhas relacionadas a equipamentos ou reagentes. Erros pós-analíticos acontecem após a obtenção dos resultados e podem incluir erros de transcrição ou falha na comunicação destes (Whipple; Leissinger; Beatty, 2020).

Whipple, Leissinger e Beatty (2020) destacam que os erros pré-analíticos são os mais comuns na medicina laboratorial, tanto em ambientes veterinários quanto humanos, e referem-se à escolha e solicitação do teste, técnica de colheita, manuseio, identificação, transporte e armazenamento da amostra no laboratório. Em estudo acerca de erros ocorridos em um hospital veterinário educacional, os erros pré-analíticos representaram 75,3% de todos os erros em um primeiro período e 81,9% em um segundo período de avaliação.

Humann-Ziehanck e Ganter (2012) ressaltam a relevância dos fatores pré-analíticos na qualidade dos diagnósticos laboratoriais em animais de fazenda. Tais fatores podem provocar variações significativas nas concentrações de analitos bioquímicos e hematológicos, levando a conclusões imprecisas e a decisões equivocadas na condução do caso clínico, como também em pesquisas. Os fatores podem estar relacionados ao animal, como horário, alimentação, idade, sexo, medicamentos, estresse, entre outros; ou à técnica, como escolha do tubo, anticoagulantes, procedimento de colheita, contaminação, armazenamento e transporte das amostras.

Acerca de exames bioquímicos de ovinos, de acordo com Braun e colaboradores (2010), o primeiro passo para sua realização é a seleção adequada dos testes e o gerenciamento eficiente da fase pré-analítica. Os autores mencionam diversos fatores pré-analíticos que podem influenciar os resultados das análises bioquímicas na espécie, como interferência do tipo de anticoagulante, tempo de processamento para obtenção de soro ou plasma, fatores climáticos, estado fisiológico do animal no momento da colheita, fatores nutricionais, transporte e alojamento.

No estudo de Whipple, Leissinger e Beatty (2020) sobre erros em exames laboratoriais, verificou-se uma quantidade significativa de amostras hemolisadas (Tabela 2). A hemólise é

mencionada como uma condição que pode ser patológica ou resultante de erros pré-analíticos, como técnica inadequada de colheita de sangue ou manuseio inadequado da amostra, e que pode interferir nos resultados das análises laboratoriais, especialmente em métodos colorimétricos.

Tabela 2 - Percentual de amostras hemolisadas em hospital veterinário educacional

Índice de hemólise	Percentual de amostras
H3	13,0%
H4	1,3%
H5	0,70%
H6	0,35%
Hemólise total	5,7%

Fonte: Adaptado de Whipple; Leissinger; Beatty, 2020. O índice de hemólise é utilizado para avaliar a gravidade da hemólise nas amostras, variando de 1 (nenhuma ou mínima hemólise) a 6 (hemólise acentuada). Amostras com índice de hemólise igual ou superior a 3 foram registradas, pois podem afetar os resultados das análises.

A hemólise pré-analítica pode afetar significativamente vários parâmetros bioquímicos, podendo causar aumentos nas concentrações de albumina, colesterol, fósforo e hemoglobina, e diminuições nos níveis de cálcio, creatinina, globulinas, bilirrubina total e proteínas totais. A hemólise pode causar tanto a liberação de componentes intracelulares no soro quanto a diluição deste, resultando em concentrações alteradas dos analitos. A liberação de fosfato dos eritrócitos pode aumentar os níveis de fósforo no soro, enquanto a diluição do soro pode diminuir os níveis de cálcio. A hemoglobina e outros componentes intracelulares no soro podem interagir quimicamente com os reagentes. Em análises espectrofotométricas, a hemoglobina liberada tem um amplo espectro de absorção, o que pode interferir nas medições de outros analitos (Larrán *et al.*, 2024).

As causas de hemólise *in vitro* incluem técnicas inadequadas de colheita de sangue, e falhas no armazenamento e transporte das amostras. A aplicação excessiva de pressão ou a utilização de agulhas de calibre inadequado, podem causar a ruptura das hemácias. Embora os sistemas a vácuo sejam eficientes, eles podem aumentar a sensibilidade das membranas a outros fatores pré-analíticos, resultando também em hemólise. Da mesma forma, agitação excessiva das amostras ocorridas durante transporte ou manuseio, temperaturas extremas, tempo prolongado de armazenamento e contaminação da amostra com substâncias químicas ou reagentes durante a colheita ou processamento podem causar a degradação das hemácias e resultar em hemólise (Alekhin; Zhukov, 2022; Heireman *et al.*, 2017).

Erros analíticos e pós-analíticos são menos comuns do que os pré-analíticos, no entanto, podem igualmente ter um impacto significativo na precisão e utilidade de resultados laboratoriais. Os erros analíticos ocorrem durante a fase de teste e incluem problemas relacionados aos equipamentos, uso inadequado de reagentes, erros na medição e transferência de líquidos, resultando em concentrações incorretas de amostras, e substâncias endógenas ou exógenas presentes nas amostras, podendo interferir nos resultados dos testes (Whipple, Leissinger, Beatty, 2020).

Os erros pós-analíticos, por sua vez, ocorrem após a geração dos resultados e incluem erros ao transcrever os resultados dos testes para os registros, falhas na comunicação dos resultados, validação incorreta dos dados gerados durante os testes e atrasos na liberação dos resultados, podendo impactar negativamente na utilização destes pelo clínico solicitante (Whipple, Leissinger, Beatty, 2020).

Erros pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos podem ser minimizados com a implementação de sistemas de gestão de informações laboratoriais e educação adicional para a equipe laboratorial e médicos veterinários responsáveis pela colheita e envio das amostras (Alekhin; Zhukov, 2022; Larrán *et al.*, 2024; Whipple, Leissinger, Beatty, 2020).

3.3.2 Particularidades dos exames hematológicos na espécie caprina

A composição sanguínea desempenha um papel crucial na compreensão da fisiologia e da saúde dos indivíduos de cada espécie. Nos ruminantes, os caprinos apresentam características específicas que os distinguem de outras espécies, como os bovinos e ovinos. Um exemplo é o fato de suas hemácias serem menores e mais susceptíveis à hemólise *in vitro*, o que pode representar um desafio significativo durante a colheita e análise de amostras sanguíneas. Adicionalmente, os caprinos apresentam uma proporção maior de linfócitos em comparação a outras espécies de ruminantes, o que pode refletir diferenças em seus mecanismos de resposta imunológica (Newcomer *et al.*, 2021; Thrall *et al.*, 2015). Valores de referência para os dados hematológicos de caprinos são fornecidos na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros hematológicos de normalidade para caprinos

Parâmetro (Unidades)	Caprinos Adultos
Hematócrito (%)	22–36
Hemoglobina (g/dL)	8–12
Contagem de eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	8–17
Volume corpuscular médio (fL)	15–26

Parâmetro (Unidades)	Caprinos Adultos
CHCM (g/dL)	29–35
Contagem de plaquetas ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	2.8–6.4
Contagem total de leucócitos ($/\mu\text{L}$)	4.000–13.000
Neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L}$)	1.400–8.000
Neutrófilos em banda ($/\mu\text{L}$)	0
Linfócitos ($/\mu\text{L}$)	2.000–9.000
Monócitos ($/\mu\text{L}$)	0–500
Eosinófilos ($/\mu\text{L}$)	0–900
Basófilos ($/\mu\text{L}$)	0–100
Proteínas plasmáticas totais (g/dL)	6.0–7.5
Fibrinogênio (mg/dL)	100–500

Fonte: Adaptado de Newcomer *et al.* (2021).

A composição sanguínea dos caprinos pode ser modulada por fatores como idade, sexo e estado fisiológico, bem como por fatores ambientais e de manejo, incluindo temperatura, umidade, nutrição e níveis de estresse. O estresse térmico, por exemplo, pode induzir alterações nos parâmetros hematológicos, como o aumento do hematócrito e da concentração de hemoglobina. Além disso, a nutrição inadequada pode resultar em deficiências de nutrientes essenciais, impactando a produção e a função de células sanguíneas (Thrall *et al.*, 2015).

Newcomer *et al.* (2021) fornecem diversas recomendações para colheita de sangue de caprinos, no intuito de auxiliar na precisão e confiabilidade dos resultados de análises laboratoriais para a espécie. Segundo os autores, o sangue de caprinos não deve ser colhido com sistema a vácuo, uma vez que as hemácias da espécie são pequenas e particularmente susceptíveis a hemólise. São recomendadas agulhas de 18 ou 20-gauge (0,9 a 1,7 mm), com comprimento de 1 a 1,5 polegadas (25,4 a 38,1 mm), para colheita de sangue de adultos, e de 22-gauge (0,7 mm) para neonatos. De acordo com Duncan e Prasse (1982), as agulhas mais utilizadas para colheita de sangue de caprinos são as 40 x 1,0 mm, 40 x 1,2 mm e 40 x 1,6 mm.

A veia jugular é o vaso de preferência para a colheita na espécie (Duncan; Prasse, 1982), devendo-se aplicar pressão digital proximalmente, logo acima da entrada torácica, a fim de bloquear o fluxo sanguíneo. O anticoagulante recomendado para hemograma é o EDTA, e os tubos devem ser preenchidos de maneira a garantir a proporção adequada entre sangue e anticoagulante. As amostras devem ser processadas rapidamente após a colheita e, caso haja atraso, devem ser refrigeradas a 4°C por até 24 horas. Uma lâmina de sangue seca ao ar deve ser preparada logo após a colheita para evitar alterações na morfologia dos leucócitos e a separação de parasitas dos eritrócitos (Newcomer *et al.*, 2021; Silva, 2017).

Há limitações quanto ao uso de analisadores automáticos para exames hematológicos de caprinos. Estudos apontam que esses aparelhos podem não ser totalmente precisos para a espécie devido às diferenças nas características de suas células sanguíneas em comparação com outras espécies, como o tamanho reduzido das hemácias. Ibrahim (2014), detectou redução significativa nos valores de hematócrito e de hemoglobina em resultados obtidos por analisador automático, em comparação com os obtidos por método manual. Tuna (2022) obteve valores significativamente mais altos de contagem total de leucócitos e de neutrófilos, e mais baixos de linfócitos com analisador automático, comparativamente a método manual.

3.4 CONCLUSÃO

A compreensão da composição sanguínea dos ruminantes, especialmente dos caprinos, é fundamental para a prática veterinária. As particularidades do sangue de caprinos, como sua maior susceptibilidade à hemólise, destacam a importância de abordagens específicas para essa espécie. Estudos futuros devem continuar a investigar os fatores que influenciam na fragilidade das hemácias e desenvolver estratégias para assegurar a acurácia de exames hematológicos para a espécie.

REFERÊNCIAS

- ADENKOLA, A. Y.; AGBENDEH, J.; OKPE, J. Comparative assessment of erythrocyte osmotic fragility of apparently healthy goat and cattle during the hot-dry and harmattan season in Makurdi, Nigeria. **Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 11, n. 3, p. 1474-1480, 2011.
- ALEKHIN, J. N.; ZHUKOV, M. The effect of the blood sampling method on the risk of mechanical hemolysis of erythrocytes in healthy calves and with endogenous intoxication syndrome. **International Journal of Veterinary Medicine**, v. 1, p. 110-115, 2022. DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.1.110.
- AL-QARAWI, A. A.; MOUSA, H. M. Lipid concentrations in erythrocyte membranes in normal, starved, dehydrated and rehydrated camels (*Camelus dromedarius*) and in normal sheep (*Ovis aries*) and goats (*Capra hircus*). **Journal of Arid Environments**, v. 59, n. 4, p. 675-683, 2004.
- AYRES, M. C. C. **Eritrograma de Zebuínos (*Bos indicus*, Linnaeus, 1759) da raça Nelore, criados no Estado de São Paulo, influência dos fatores etários, sexual e do tipo racial**. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.
- BARGER, A. M.; MACNEILL, A. L. (eds.). **Clinical Pathology and Laboratory Techniques for Veterinary Technicians**. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, 2015. ISBN 978-1-118-34509-2.
- BRAUN, J. P.; TRUMEL, C.; BÉZILLE, P. Clinical biochemistry in sheep: A selected review. **Small Ruminant Research**, v. 92, n. 1-3, p. 10-18, 2010. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2010.04.002.
- CARNEIRO, J.; JUNQUEIRA, L. C. **Histologia Básica**. 11ª edição. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2008.
- DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217 p.
- CARLI, G. J.; PEREIRA, T. C. Aquaporina 1: o primeiro gene codificador de um canal de água identificado em humanos. **Genética na Escola**, v. 14, n. 1, 2019.
- DAS, K.; BHATTACHARYYA, J. Effect of calcium and diltiazem on phenylhydrazine-induced oxidative injury in goat erythrocytes. **Health**, v. 2, n. 10, p. 1221-1225, 2010. DOI: 10.4236/health.2010.210181.
- EFFENBERGER-NEIDNICHT, K.; HARTMANN, M. Mechanisms of Hemolysis During Sepsis. **Springer Nature**, v. 41, p. 1569-1581, 2018. DOI: 10.1007/s10753-018-0810-y.
- FAIRLEY, N.M., PRICE, G.S., MEUTEN, D.J. Evaluation of red blood cell fragility in pygmy goats. **American Journal Veterinary Research**, v.49, n.9, p.1598-600, 1988.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. (ed.). **Patologia clínica veterinária: texto introdutório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 342 p.

HABIBU, B. *et al.* Influence of sex, reproductive status and foetal number on erythrocyte osmotic fragility, haematological and physiologic parameters in goats during the hot-dry season. **Veterinarni medicina**, v. 59, n. 10, p. 479-490, 2014.

HARISA, G. I.; BADRAN, M. M. Simvastatin nanolipid carriers decreased hypercholesterolemia induced cholesterol inclusion and phosphatidylserine exposure on human erythrocytes. **Journal of Molecular Liquids**, v. 208, p. 202-210, 2015.

HARVEY, J. W. **Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals**. Philadelphia: Saunders, 2001. ISBN 978-0-7216-6334-0.

HEIREMAN, L. *et al.* Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory. **Clinical Biochemistry**, v. 50, n. 18, p. 1317-1322, 2017.

HUMANN-ZIEHANK, E.; GANTER, M. Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. **Animal**, v. 6, n. 7, p. 1115-1123, 2012. DOI: 10.1017/S1751731111002679.

IBRHIM, I. E. Cow, Sheep And Goat Hematological Parameters: Comparative Studies Between Automated Analyzer and Manual Methods. **Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences**, Kufa, v. 5, n. 2, p. 241-248, 2014.

IGBOKWE, N. A. A review of the factors that influence erythrocyte osmotic fragility. **Sokoto Journal of Veterinary Sciences**, v. 16, n. 4, p. 1-23, 2018. DOI: 10.4314/sokjvs.v16i4.1.

IGBOKWE, N. A.; OJO, N. A.; IGBOKWE, I. O. Quantified Effects of Late Pregnancy and Lactation on the Osmotic Stability of Sahel Goat Erythrocytes. **Nigerian Veterinary Journal**, v. 36, n. 1, p. 1122-1129, 2015.

_____. Effects of sex and age on the osmotic stability of Sahel goat erythrocytes. **Comparative Clinical Pathology**, 25(1): 15-22, 2016.

IGBOKWE, N. A. *et al.* **Inhibition of osmotic permeability of caprine erythrocytes by mercuric chloride in osmotic fragility models**. Sokoto Journal of Veterinary Sciences, v. 16, n. 3, p. 24-32, 2018. DOI: 10.4314/sokjvs.v16i3.4.

JONES, M. L.; ALLISON, R. W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 377-402, 2007.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.

KHALID, U. **Osmotic Fragility of Erythrocytes**. *Medscape*, 2020. Disponível em: <<http://www.medscape.com/article/2085814>>. Acesso em: 20 nov. 2024.

LARRÁN, B. *et al.* Influence of haemolysis on blood biochemistry profiles in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 171, p. 105203, 2024. DOI: 10.1016/j.rvsc.2024.105203.

LITWACK, G. Hormonal Regulation of Epithelial Sodium Channel (ENaC) and Other Nonneuronal Epithelial Ion Channels. *In*: LITWACK, Gerald (ed.). **Hormonal Signaling in Biology and Medicine**. Academic Press, 2020. p. 283-309. ISBN 9780128138144. DOI: 10.1016/B978-0-12-813814-4.00012-2.

MINKA, N. S.; AYO, J. O. Physiological Responses of Erythrocytes of Goats to Transportation and the Modulatory Role of Ascorbic Acid. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 72, n. 7, p. 875-881, 2010. DOI: 10.1292/jvms.09-0540.

MURADOR, P.; DEFFUNE, E. Aspectos estruturais da membrana eritrocitária. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 2, p. 168-178, 2007.

NEWCOMER, B. W. *et al.* Diseases of the hematologic, immunologic, and lymphatic systems (multisystem diseases). *In*: PUGH, D. G.; BAIRD, A. N. N.; EDMONDSON, M. A.; PASSLER, T. **Sheep Goat Cervid Medicine**, 2020, p. 405-438

OLUSANYA, A. O.; ADEPOJU, A. Comparative study of erythrocyte osmotic fragility in West African Dwarf goats and sheep. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 45, n. 2, p. 123-130, 2004.

OYEWALE, J. O. Osmotic fragility of erythrocytes of West African Dwarf sheep and goats: Effects of temperature and pH. **British Veterinary Journal**, 147(2): 163-170, 1991.

POLIZOPOULOU, Z. S. Haematological tests in sheep health management. **Small Ruminant Research**, v. 92, n. 1-3, p. 88-91, 2010. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2010.04.015.

PUGH, D. *et al.* **Sheep, Goat, and Cervid Medicine**. 3rd ed. Elsevier, 2020. ISBN: 9780323624633.

REAGAN, W. J.; ROVIRA, A. R. I.; DeNICOLA, D. B. **Veterinary Hematology: Atlas of Common Domestic and Non-Domestic Species**. 2nd ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2008. ISBN 978-0-8138-2809-1.

REDDY, P. R. *et al.* Erythrocyte fragility based assessment of true thermal resilience in tropical small ruminants. **Biological Rhythm Research**, v. 50, n. 4, p. 241-248, 2019. DOI: 10.1080/09291016.2019.1629087.

REZAEI, S. A.; DALIR-NAGHADEH, B. Association of plasma and heart homocysteine and blood malondialdehyde with cardiovascular diseases induced by acute selenium deficiency in lambs. **Small Ruminant Research**, v. 83, n. 1-3, p. 22-28, 2009. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2009.02.006.

ROCHA-FILHO, R. C. Prêmio Nobel de Química de 2003: Canais de Água e de Íons. **Química Nova na Escola**, n. 18, p. 9-12, 2003.

ROLAND, L.; DRILLICH, M.; IWERSEN, M. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 26, n. 5, p. 592-598, 2014.

SANT'ANA, V. A. C.; BIRGEL, E. H.; MOURÃO, G. B.; MIRANDOLA, R. M. Fragilidade osmótica dos eritrócitos de bovinos das raças Holandesa, Girolando e Gir, criados no estado de São Paulo. **Ciência Rural**, v. 31, n. 4, p. 609-614, 2001.

SILVA, M. N. **Hematologia Veterinária**. Belém: EditAEDI, UFPA, 2017. 116 p. ISBN 978-85-65054-52-2.

THRALL, M. A. *et al.* **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. 720 p.

TUNA, G. E. Comparison of the Results of Automatic Blood Analyser and Manual Peripheral Smear Method in Total and Differential Leukocyte Count in Goats. **Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, Kufa, v. 11, n. 1, p. 093-099, 2022.

VOIGT, G. L.; SWIST, S. L. **Hematology Techniques and Concepts for Veterinary Technicians**. 2. ed. Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell, 2011. 187 p. ISBN 9780813814568.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (eds.). **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010. ISBN: 9780813817989.

WHIPPLE, K. M.; LEISSINGER, M. K.; BEATTY, S. S. Frequency and classification of errors in laboratory medicine at a veterinary teaching hospital in the United States. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 49, n. 3, p. 458-468, 2020. DOI: 10.1111/vcp.12851.

WONG, P. A basis of the acanthocytosis in inherited and acquired disorders. **Medical Hypotheses**, v. 62, n. 6, p. 966-969, 2004. DOI: 10.1016/j.mehy.2004.01.025.

YOSHIDA, T.; PRUDENT, M.; D'ALESSANDRO, A. Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences. **Blood Transfusion**, v. 17, p. 27-52, 2019. DOI: 10.2450/2019.0217-18.

4 CAPÍTULO II – PRODUÇÃO CIENTÍFICA

4.1 ARTIGO CIENTÍFICO

Avaliação da influência de métodos de colheita de sangue sobre parâmetros hematológicos de caprinos da raça Saanen: comparação entre sistema a vácuo e colheita por gravidade

Assessment of the influence of blood collection methods on hematological parameters in Saanen goats: comparison between vacuum system and gravity collection

Evaluación de la influencia de los métodos de recolección de sangre sobre los parámetros hematológicos de cabras Saanen: comparación entre sistema de vacío y recolección por gravedad

Poliana Barbosa Martins de Oliveira

Graduada em Medicina Veterinária

Instituição de formação: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco

Endereço: Garanhuns, Pernambuco, Brasil

E-mail: polianaoliveiravet@gmail.com.br

Luiz Carlos Fontes Baptista Filho

Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco

Endereço: Garanhuns, Pernambuco, Brasil.

E-mail: luiz.baptista@ufape.edu.br

RESUMO

Exames hematológicos são essenciais para a avaliação da saúde dos caprinos, e a utilização de técnicas adequadas de colheita de amostras é fundamental para a precisão dos resultados. A literatura sugere que, para a espécie caprina, o uso de sistemas a vácuo e agulhas de calibre reduzido é desaconselhado, uma vez que esses métodos poderiam aumentar a ocorrência de hemólise, devido à maior fragilidade dos eritrócitos da espécie. Este estudo teve como objetivo avaliar a influência de dois métodos de colheita de sangue sobre parâmetros hematológicos de caprinos adultos da raça Saanen: um método com sistema a vácuo e agulha 25 x 0,7 mm e outro por gravidade, com agulha 40 x 1,2 mm. Foram utilizados 50 caprinos hípidos, sem distinção de manejo ou sexo. A análise dos parâmetros hematológicos seguiu metodologias padrão. Não foram observadas diferenças significativas nos resultados de contagem de hemácias, hematócrito, volume corpuscular médio, leucócitos totais e proteínas plasmáticas totais entre os dois métodos de colheita (nível de significância de 0,05). Esses resultados indicam que, sob as condições do estudo, o sistema a

vácuo não induziu hemólise significativa, e ambos os métodos são confiáveis para uso em caprinos.

Palavras-chave: Hematologia. Hemograma. Hemólise. Pequenos ruminantes.

ABSTRACT

Hematological tests are essential for assessing the health of goats, and the use of proper sample collection techniques is crucial for the accuracy of the results. The literature suggests that for the caprine species, the use of vacuum systems and small gauge needles is not recommended, as these methods could increase the occurrence of hemolysis due to the greater fragility of the species' erythrocytes. This study aimed to evaluate the influence of two blood collection methods on the hematological parameters of adult Saanen goats: one method using a vacuum system and a 25 x 0.7 mm needle, and another by gravity, with a 40 x 1.2 mm needle. Fifty healthy goats, with no distinction of management or sex, were used. The analysis of the hematological parameters followed standard methodologies. No significant differences were observed in the results of red blood cell count, hematocrit, mean corpuscular volume, total leukocytes, and total plasma proteins between the two collection methods (significance level of 0.05). These results indicate that, under the study conditions, the vacuum system did not induce significant hemolysis, and both methods are reliable for use in goats.

Keywords: Hematology. Blood count. Hemolysis. Small ruminants

RESUMEN

Los exámenes hematológicos son esenciales para la evaluación de la salud de los caprinos, y la utilización de técnicas adecuadas para la recolección de muestras es fundamental para la precisión de los resultados. La literatura sugiere que, para la especie caprina, el uso de sistemas de vacío y agujas de calibre reducido no se recomienda, ya que estos métodos podrían aumentar la ocurrencia de hemólisis debido a la mayor fragilidad de los eritrocitos de la especie. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la influencia de dos métodos de recolección de sangre sobre los parámetros hematológicos de caprinos adultos de la raza Saanen: un método con sistema de vacío y aguja 25 x 0,7 mm, y otro por gravedad, con aguja 40 x 1,2 mm. Se utilizaron 50 caprinos saludables, sin distinción de manejo o sexo. El análisis de los parámetros hematológicos siguió metodologías estándar. No se observaron diferencias significativas en los resultados de la cuenta de glóbulos rojos, hematócrito, volumen corpuscular medio, leucocitos totales y proteínas plasmáticas totales entre los dos métodos de recolección (nivel de significancia de 0,05). Estos resultados indican que, bajo las condiciones del estudio, el sistema de vacío no indujo hemólisis significativa, y ambos métodos son confiables para su uso en caprinos.

Palabras clave: Hematología. Hemograma. Hemólisis. Pequeños rumiantes.

1 INTRODUÇÃO

Avaliações hematológicas fornecem importantes informações acerca da saúde de ruminantes, sendo de grande relevância que profissionais responsáveis pela execução dos exames tenham conhecimento dos métodos corretos de colheita e processamento das amostras. Para isso, devem-se levar em consideração as particularidades inerentes a cada espécie, evitando-se assim falhas, que podem levar a erros nos resultados dos exames (Thrall *et al.*, 2015; Whipple; Leissinger; Beatty, 2020).

As hemácias dos ruminantes apresentam maior fragilidade em comparação com as de outras espécies, sendo as dos caprinos particularmente mais susceptíveis à hemólise, que é o processo de destruição das hemácias, além de apresentarem características distintas, como o tamanho reduzido. Tais particularidades suscitam questionamentos sobre a adequação dos métodos de colheita e processamento das amostras (Duncan; Prasse, 1982; Newcomer *et al.*, 2021).

A literatura desaconselha a colheita de sangue de caprinos com sistemas a vácuo ou com agulhas de calibre reduzido. A hipótese é de que estes métodos poderiam aumentar a probabilidade de hemólise, uma vez que as hemácias dos caprinos são mais susceptíveis a danos mecânicos em comparação com as de outras espécies (Newcomer *et al.*, 2021).

Quando ocorre hemólise, os componentes intracelulares das hemácias são liberados no plasma, o que pode interferir na precisão dos exames laboratoriais, como na contagem de eritrócitos e no hematócrito. Além disso, a hemólise pode afetar negativamente a interpretação de resultados bioquímicos, pois a presença de hemoglobina no plasma pode distorcer as medições e comprometer a avaliação da saúde do animal (Larrán *et al.*, 2024).

Portanto, a minimização da hemólise é essencial para garantir a qualidade das amostras e a confiabilidade dos resultados laboratoriais para caprinos (Newcomer *et al.*, 2020). Contudo, há uma carência de pesquisas que avaliem a interferência dos métodos de colheita, particularmente pelo uso de sistemas a vácuo e com agulha de calibre reduzido, no que se refere às alterações de resultados de parâmetros hematológicos de caprinos.

Nesse contexto, objetivou-se com o presente estudo avaliar a influência do método de colheita de sangue por sistema a vácuo, com agulha de calibre 25 x 0,7

mm, e por gravidade, com agulha de 40 x 1,2 mm, sobre parâmetros hematológicos de caprinos adultos da raça Saanen.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Exames hematológicos, como eritrograma, leucograma e proteinograma, são fundamentais para a prática veterinária, pois fornecem informações de grande relevância sobre a saúde dos animais. A contagem de hemácias por microlitro é essencial para avaliação da capacidade de transporte de oxigênio do sangue. O hematócrito mede a proporção do volume de sangue ocupado pelas hemácias. Alterações nos resultados desses exames podem indicar anemias, desidratação ou policitemia. O volume corpuscular médio (VCM) reflete o tamanho médio dos eritrócitos e é utilizado para classificar anemias. Hemácias normocíticas, macrocíticas ou microcíticas podem indicar diferentes tipos de anemias e suas causas subjacentes (González; Silva, 2008; Thrall *et al.*, 2015; Silva, 2017).

O valor total de leucócitos por microlitro é de grande importância para avaliação do estado imunológico dos animais, pois permite determinar a concentração dos tipos de leucócitos que compõem a contagem diferencial. Alterações no resultado desse exame podem indicar infecções, inflamações ou doenças imunológicas (Thrall *et al.*, 2015). Os níveis de proteína plasmática total (PPT), por sua vez, referem-se ao teor de proteínas do plasma sanguíneo, incluindo albumina, globulinas e fibrinogênio. Alterações nos níveis de PPT podem indicar problemas como desidratação, inflamação ou doenças hepáticas (Voigt; Swist, 2011).

Apesar da importância dos exames laboratoriais na gestão de casos clínicos e na tomada de decisões, como escolha da terapêutica a ser instituída, diferentes tipos de erros podem ocorrer na medicina laboratorial, sendo classificados em pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos. Erros pré-analíticos, que ocorrem antes dos testes das amostras, são os mais comuns e incluem seleção e manuseio inadequados destas. Erros analíticos ocorrem durante os testes e podem envolver falhas relacionadas a equipamentos ou reagentes. Erros pós-analíticos acontecem após a obtenção dos resultados e podem incluir erros de transcrição ou falha na comunicação destes (Whipple; Leissinger; Beatty, 2020).

Whipple, Leissinger e Beatty (2020) destacam que os erros pré-analíticos, como a colheita e o manuseio inadequado das amostras, são comuns na medicina

laboratorial, tanto em ambientes veterinários quanto humanos, e podem levar à hemólise *in vitro*, um dos principais problemas detectados nos laboratórios. Segundo Larrán *et al.* (2024), a hemólise pode alterar vários parâmetros bioquímicos, resultando em aumentos nas concentrações de albumina, colesterol, fósforo e hemoglobina, e diminuições nos níveis de cálcio, creatinina, globulinas, bilirrubina total e PPT. Isso ocorre devido à liberação de componentes intracelulares no soro ou à diluição deste, o que afeta as concentrações dos analitos. A liberação de fosfato pode elevar os níveis de fósforo, enquanto a diluição pode reduzir os níveis de cálcio, e a hemoglobina liberada pode interferir nas análises espectrofotométricas, alterando as medições de outros analitos.

As causas de hemólise *in vitro* incluem técnicas inadequadas de colheita de sangue, e falhas no armazenamento e transporte das amostras. A aplicação excessiva de pressão ou a utilização de agulhas de calibre inadequado, podem causar a ruptura das hemácias. Embora os sistemas a vácuo sejam eficientes, eles podem aumentar a sensibilidade das membranas a outros fatores pré-analíticos, resultando também em hemólise. Da mesma forma, agitação excessiva das amostras durante o transporte ou manuseio inadequado, temperaturas extremas, armazenamento prolongado e contaminação com substâncias químicas ou outros materiais durante a colheita ou processamento podem causar a degradação das hemácias e resultar em hemólise (Heireman *et al.*, 2017; Alekhin; Zhukov, 2022).

Newcomer *et al.* (2021) fornecem diversas recomendações para colheita de sangue de caprinos, no intuito de auxiliar na precisão e confiabilidade dos resultados de análises laboratoriais para a espécie. Segundo os autores, o sangue de caprinos não deve ser colhido com sistema a vácuo, uma vez que as hemácias da espécie são pequenas e particularmente susceptíveis a hemólise. São recomendadas agulhas de 18 ou 20-gauge (0,9 a 1,7 mm), com comprimento de 1 a 1,5 polegadas (25,4 a 38,1 mm), para colheita de sangue de adultos, e de 22-gauge (0,7 mm) para neonatos. De acordo com Duncan e Prasse (1982), as agulhas mais utilizadas para colheita de sangue de caprinos são as 40 x 1,0 mm, 40 x 1,2 mm e 40 x 1,6 mm.

A veia jugular é o vaso de preferência para a colheita na espécie (Duncan; Prasse, 1982), devendo-se aplicar pressão digital proximalmente, logo acima da entrada torácica, a fim de bloquear o fluxo sanguíneo. O anticoagulante recomendado para hemograma é o EDTA, e os tubos devem ser preenchidos de maneira a garantir a proporção adequada entre sangue e anticoagulante. As amostras devem ser

processadas rapidamente após a colheita e, caso haja atraso, devem ser refrigeradas a 4°C (Silva, 2017; Newcomer *et al.*, 2021).

Além do tamanho reduzido, diversos fatores podem afetar a fragilidade dos eritrócitos de caprinos. Animais mais jovens apresentam eritrócitos mais frágeis, com a resistência eritrocitária aumentando à medida que alcançam a idade adulta (Igbokwe; Ojo; Igbokwe, 2016). Hormônios sexuais, como o estrogênio e a prolactina, podem aumentar a susceptibilidade dos eritrócitos ao estresse osmótico, enquanto a progesterona pode afetar positivamente o funcionamento de proteínas de membrana, conferindo maior resistência eritrocitária durante a gestação (Igbokwe; Ojo; Igbokwe, 2015).

Deficiências nutricionais, como a falta de fósforo e selênio, podem aumentar a fragilidade dos eritrócitos (Rezaei; Dalir-Naghadeh; 2009). A hipofosfatemia grave, por exemplo, pode causar hemólise devido à inibição da glicólise eritrocitária (Thrall *et al.*, 2015). O estresse térmico e o transporte prolongado podem ainda contribuir para o aumento da fragilidade dos eritrócitos (Minka; Ayo, 2010; Adenkola; Agbendeh; Okpe, 2011; Reddy *et al.*, 2019).

3 METODOLOGIA

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso dos Animais da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (CEUA-UFAPE), sob licença CEUAUFAPE2024020531.

Foram utilizados 50 caprinos adultos da raça Saanen, sem distinção de manejo ou sexo, oriundos de criatórios dos municípios de Garanhuns-PE (Latitude: 8°53'10" S; Longitude: 36°29'23" O) e Alagoinha-PE (Latitude: 8°46'09" S; Longitude: 36°34'17" O). A região possui clima tropical de altitude, com temperaturas médias anuais variando entre 16°C e 28°C. A pesquisa foi conduzida entre os meses de julho a dezembro, com temperaturas médias em torno de 23°C. Os animais foram submetidos previamente a exame físico, de acordo com Pugh *et al.* (2020), e apenas os considerados hígidos foram incluídos na avaliação.

Para execução do hemograma, foi colhido de todos os animais selecionados, em tubos de 4 mL contendo EDTA, sangue da veia jugular externa esquerda utilizando sistema a vácuo, com agulhas 25 x 0,7 mm (Figura 1.A), e 4 mL de sangue da veia jugular direita por gravidade, com agulha 40 x 1,2 mm (Figura 1.B). Antes da

venopunção, foi feita antissepsia do local com álcool 70° e, após remoção da agulha, foi feita compressão local. O processamento e análise das amostras, bem como a interpretação dos resultados do hemograma seguiu metodologia proposta por Thrall *et al.* (2015).

Figura 1. Colheita de sangue de caprinos adultos e hígidos, da raça Saanen, por diferentes métodos. A. Colheita com sistema a vácuo, B. Colheita por gravidade.



Fonte: Elaboradas pelos próprios autores.

Os tubos contendo as amostras foram identificados de acordo com o método de colheita utilizado, e devidamente transportados em caixa isotérmica, evitando-se interferência de fatores externos que pudessem predispor à hemólise. No Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, foi realizada a análise das amostras de cada animal.

A contagem total de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) e de leucócitos (células/ μL) foi realizada em duplicata, manualmente, por meio de leitura em hemocitômetro após diluição (Weiss; Wardrop, 2010). A determinação do hematócrito (Ht) foi feita por microtécnica, utilizando-se tubos capilares de vidro, com resultados expressos em porcentagem (%). Os valores absolutos de volume corpuscular médio (VCM) foram obtidos a partir dos valores resultantes das contagens de hemácias e dos hematócritos, através da fórmula: $\text{VCM} = (\text{Ht}/\text{hemácias}) \times 10$ (Thrall *et al.*, 2015). Para a dosagem de proteínas plasmáticas totais (PPT), utilizou-se refratômetro óptico, com resultados em grama por decilitro (g/dL).

Para avaliar os efeitos do tipo de colheita utilizada sobre parâmetros hematológicos, as variáveis quantitativas foram submetidas a análise descritiva a distribuição dos dados apresentada por meio das medidas de tendência central e de

dispersão. A simetria da distribuição dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias, pelo teste de Levene. As variáveis que atenderam às premissas distribuição normal e homogeneidade das variâncias foram comparadas pelo teste t de Student. Os demais dados foram avaliados pelo teste U de Mann-Whitney para amostras independentes (não paramétrico). O nível de significância utilizado foi de 0,05. Para as análises, foi utilizado o programa estatístico SPSS (Statistical Package of Social Science), versão 20.0 para Windows.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As médias e desvios-padrão das variáveis total de hemácias por microlitro de sangue, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), proteínas plasmáticas totais (PPT) e leucócitos totais por microlitro estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Médias e desvios-padrão de variáveis hematológicas de caprinos adultos, hípidos, da raça Saanen, a partir de amostras colhidas com sistema a vácuo e por gravidade.

Parâmetro	Colheita a vácuo	Colheita por gravidade	Valor de p
Hemácias ($10^6/\mu\text{L}$)	12,25±2,33	12,56±2,69	0,54
Hematócrito (%)	24,26 ±4,17	24,74±4,60	0,59
VCM (fL)	20,27±4,50	20,07±3,41	0,99
PPT (g/dL)	7,00±0,74	6,98±0,69	0,88
Leucócitos totais ($/\mu\text{L}$)	8349,00±3114,37	8280,50±2904,54	0,91

Fonte: Elaborada pelos próprios autores.

Os testes estatísticos para todas as variáveis apresentaram valores de $p > 0,05$, indicando que não houve diferença significativa entre os métodos de colheita.

Embora Newcomer *et al.* (2021) recomende evitar o uso do sistema a vácuo para colheita de sangue em caprinos devido à maior susceptibilidade das hemácias da espécie à hemólise, os resultados obtidos não corroboram essa orientação. Os autores enfatizam que as hemácias caprinas são pequenas e particularmente vulneráveis a danos mecânicos, o que pode prejudicar a qualidade dos resultados laboratoriais. No entanto, os resultados obtidos no presente estudo não mostraram alteração significativa nos parâmetros do eritrograma, sugerindo que, sob as condições adotadas no estudo, o risco de hemólise pode ser menor do que o previsto pelo referencial.

A contagem total de hemácias não diferiu significativamente entre os diferentes métodos de colheita de sangue empregados, o que indica que a colheita a vácuo pode não induzir lise eritrocitária a ponto de causar alterações nos resultados dos exames

como sugere a literatura (Newcomer *et al.*, 2021). A contagem total de hemácias é um dos principais parâmetros do eritrograma e é fundamental para avaliar a capacidade do sangue em transportar oxigênio (Thrall *et al.*, 2015).

A ausência de diferença significativa entre os valores de hematócrito das amostras de sangue colhidas pelos diferentes métodos pode indicar que a hemólise não foi suficiente para interferir nos valores desse parâmetro, confirmando que a técnica de colheita a vácuo não provocou erros substanciais sobre esses resultados. O hematócrito corresponde à proporção de volume sanguíneo ocupado pelas hemácias (Silva, 2017), e a hemólise *in vitro*, como observado por Whipple, Leissinger, Beatty (2020) e Heireman *et al.* (2017), poderia afetar esse parâmetro, com a liberação do conteúdo das hemácias para o plasma, levando a alterações nos resultados.

O volume corpuscular médio (VCM), utilizado na avaliação do tamanho das hemácias e na classificação de anemias, também não demonstrou diferença significativa entre as amostras colhidas por sistema a vácuo e por gravidade. De acordo com Thrall *et al.* (2015), variações no VCM podem ser indicativas de diferentes tipos de anemias, no entanto, no presente estudo, tais variações não foram influenciadas pelo método de colheita. A literatura ressalta que a hemólise pode interferir nos parâmetros do eritrograma (Whipple; Leissinger; Beatty, 2020; Newcomer *et al.*, 2021), entretanto, a ausência de alterações significativas na contagem de hemácias, no hematócrito e no VCM sugere que o sistema a vácuo, com o calibre de agulha utilizado, não causou danos substanciais aos eritrócitos de modo a comprometer os resultados dos exames.

Os métodos de colheita utilizados não influenciaram de forma significativa a contagem de leucócitos totais, que é um parâmetro essencial para avaliar o estado imunológico dos caprinos. Os valores de leucócitos podem ser influenciados por diversos fatores, como infecções, inflamações ou distúrbios imunológicos (González; Silva, 2008; Thrall *et al.*, 2015). Portanto, é fundamental minimizar a possibilidade de erros que possam comprometer a precisão dos resultados deste exame, a fim de evitar interpretações incorretas acerca da saúde do animal. A ausência de diferenças significativas nos valores sugere a confiabilidade de ambos os métodos de colheita utilizados.

Os valores de PPT também não apresentaram diferença significativa entre os métodos de colheita. As proteínas plasmáticas totais, compostas principalmente por albumina e globulinas, são importantes para a avaliação do estado nutricional,

imunológico e funcional do organismo. Alterações nos níveis de proteínas plasmáticas podem refletir desidratação, inflamação crônica ou doenças hepáticas (Thrall *et al.*, 2015). A hemólise *in vitro*, como discutido por Whipple, Leissinger, Beatty (2020) e Larrán *et al.* (2024), pode causar alterações nas concentrações de proteínas plasmáticas, como aumento dos níveis de albumina e diminuição nos níveis de globulina. No entanto, os resultados indicam que as diferenças nos métodos de colheita não induziram hemólise significativa para afetar os valores de PPT.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que, para caprinos, o método de colheita de sangue com sistema a vácuo e agulha de calibre reduzido não altera de forma significativa os parâmetros hematológicos analisados, sendo possível, na prática clínica e em pesquisas científicas, optar-se por qualquer um dos métodos estudados, sem comprometer os resultados dos exames.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES, à Universidade Federal do Agreste de Pernambuco – UFAPE e à Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE.

REFERÊNCIAS

- ADENKOLA, A. Y.; AGBENDEH, J.; OKPE, J. Comparative assessment of erythrocyte osmotic fragility of apparently healthy goat and cattle during the hot-dry and harmattan season in Makurdi, Nigeria. **Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 11, n. 3, p. 1474-1480, 2011.
- ALEKHIN, J. N.; ZHUKOV, M. The effect of the blood sampling method on the risk of mechanical hemolysis of erythrocytes in healthy calves and with endogenous intoxication syndrome. **International Journal of Veterinary Medicine**, v. 1, p. 110-115, 2022. DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.1.110.
- DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217 p.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. (ed.). **Patologia clínica veterinária: texto introdutório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 342 p.
- HEIREMAN, L. *et al.* Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory. **Clinical Biochemistry**, v. 50, n. 18, p. 1317-1322, 2017.
- IGBOKWE, N. A.; OJO, N. A.; IGBOKWE, I. O. Quantified Effects of Late Pregnancy and Lactation on the Osmotic Stability of Sahel Goat Erythrocytes. **Nigerian Veterinary Journal**, v. 36, n. 1, p. 1122-1129, 2015.
- _____. Effects of sex and age on the osmotic stability of Sahel goat erythrocytes. **Comparative Clinical Pathology**, 25(1): 15-22, 2016.
- LARRÁN, B. *et al.* Influence of haemolysis on blood biochemistry profiles in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 171, p. 105203, 2024. DOI: 10.1016/j.rvsc.2024.105203.
- MINKA, N. S.; AYO, J. O. Physiological Responses of Erythrocytes of Goats to Transportation and the Modulatory Role of Ascorbic Acid. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 72, n. 7, p. 875-881, 2010. DOI: 10.1292/jvms.09-0540.
- NEWCOMER, B. W. *et al.* Diseases of the hematologic, immunologic, and lymphatic systems (multisystem diseases). *In*: PUGH, D. G.; BAIRD, A. N. N.; EDMONDSON, M. A.; PASSLER, T. **Sheep Goat Cervid Medicine**, 2020, p. 405-438
- PUGH, D. *et al.* **Sheep, Goat, and Cervid Medicine**. 3rd ed. Elsevier, 2020. ISBN: 9780323624633.
- REDDY, P. R. *et al.* Erythrocyte fragility based assessment of true thermal resilience in tropical small ruminants. **Biological Rhythm Research**, v. 50, n. 4, p. 241-248, 2019. DOI: 10.1080/09291016.2019.1629087.
- REZAEI, S. A.; DALIR-NAGHADEH, B. Association of plasma and heart homocysteine and blood malondialdehyde with cardiovascular diseases induced by

acute selenium deficiency in lambs. **Small Ruminant Research**, v. 83, n. 1-3, p. 22-28, 2009. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2009.02.006.

SILVA, M. N. **Hematologia Veterinária**. Belém: EditAEDI, UFPA, 2017. 116 p. ISBN 978-85-65054-52-2.

THRALL, M. A. *et al.* **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. 720 p.

WHIPPLE, K. M.; LEISSINGER, M. K.; BEATTY, S. S. Frequency and classification of errors in laboratory medicine at a veterinary teaching hospital in the United States. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 49, n. 3, p. 458-468, 2020. DOI: 10.1111/vcp.12851.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (eds.). **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010. ISBN: 9780813817989.

**ANEXO A - NORMAS DE REDAÇÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO DA REVISTA
CADERNO PEDAGÓGICO**

Título em português

English title

Título en español

DOI: 10.54033/cadpedvXXnX-

Originals received: 02/01/2024
Acceptance for publication: 03/18/2024

Nome do Autor

Formação acadêmica mais alta com a área
Instituição de formação:
Endereço: (Cidade, Estado e País)
E-mail: xxxxxxxxxxx1@outlook.com

Nome do Autor

Formação acadêmica mais alta com a área
Instituição de formação:
Endereço: (Cidade, Estado e País)
E-mail: xxxxxxxxxxx1@outlook.com

RESUMO

O resumo do trabalho a ser publicado, com extensão entre 150 e 250 palavras, tem como objetivo oferecer uma síntese concisa do conteúdo. Recomenda-se seguir a coerência relacional ao apresentar a justificativa ou problema que motiva a pesquisa. Em seguida, os objetivos da pesquisa são delineados, seguidos pela descrição da metodologia utilizada. Os resultados obtidos são discutidos, permitindo a conclusão sobre a pesquisa. Este resumo segue as diretrizes propostas por Pires (2005).

Palavras-chave: Entre 4 e 6 palavras-chave, separadas por ponto e a letra inicial de cada palavra, em maiúsculo. Por exemplo: Direito. Liberdade. Pátria. Brasil.

ABSTRACT

The abstract of the forthcoming publication, ranging from 150 to 250 words, aims to provide a concise summary of the content. It is recommended to follow relational coherence by considering the justification or problem that motivates the research. Next, the research objectives are outlined, followed by a description of the methodology used. The obtained results are discussed, allowing for the conclusion about the research. This abstract follows the guidelines proposed by Pires (2005).

Keywords: Between 4 and 6 keywords, separated by a point and the initial letter of each word in capital letters. For example: Right. Liberty. Patria. Brazil.

RESUMEN

El resumen del trabajo a ser publicado, con una extensión entre 150 y 250 palabras, tiene como objetivo ofrecer una síntesis concisa del contenido. Se recomienda seguir la coherencia relacional al considerar la justificación o problema que motiva la investigación. A continuación, se delimitan los objetivos de la investigación, seguidos de una descripción de la metodología utilizada. Se discuten los resultados obtenidos, permitiendo así la conclusión sobre la investigación. Este resumen sigue las pautas propuestas por Pires (2005).

Palabras clave: Entre 4 y 6 palabras clave, separadas por puntos y la letra inicial de cada palabra en mayúscula. Por ejemplo: Derecho. Libertad. Patria. Brasil.

1 INTRODUÇÃO

Descrever a contextualização, a questão de pesquisa e a justificativa da pesquisa, utilizando fonte Arial 12 e espaçamento entre linhas de 1,5. O número máximo de autores permitidos é **oito**; caso o artigo apresente mais do que esse número, é necessário entrar em contato com a revista para consultar sobre a taxa adicional para a inclusão de um autor adicional. Quanto à extensão do manuscrito, este deve conter no máximo 20 páginas, já incluindo as referências bibliográficas. Os trabalhos podem ser redigidos em português, inglês e espanhol.

No final da introdução, os objetivos do trabalho devem ser claramente delineados, de forma específica e mensurável. Caso deseje, é possível criar um subitem exclusivo para o objetivo. Além disso, é fundamental que sejam formulados de maneira alcançável, garantindo que o leitor compreenda completamente o escopo do estudo e o que será abordado e avaliado.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

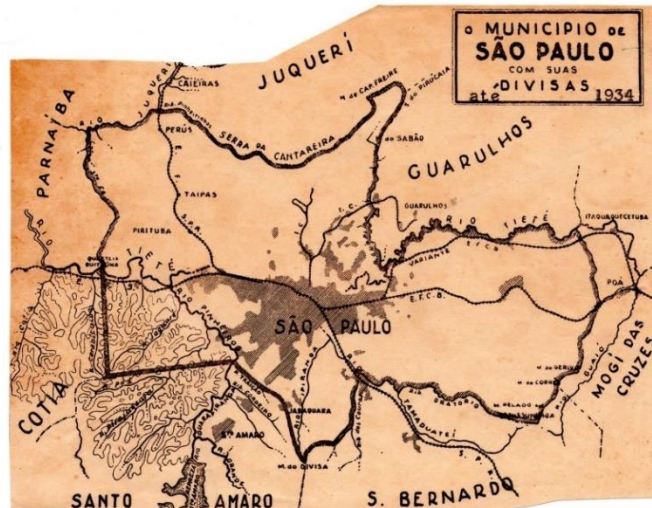
O referencial teórico em um estudo compreende uma análise crítica e organizada da literatura pertinente ao tema, fornecendo uma contextualização teórica e definindo os conceitos-chave. Deve conter de maneira abrangente as teorias, modelos e pesquisas anteriores, identificando lacunas, contradições e consensos na literatura que são importantes para o foco do trabalho que está sendo desenvolvido.

2.1 TÍTULO DAS FIGURAS (QUADROS, TABELAS, ETC.)

O título da figura expõe de forma concisa, mas discursiva, o conteúdo da imagem. A fonte do título deve ser Arial tamanho 10, com espaçamento de 1,0, centralizado. Cada figura deve ser numerada com algarismos arábicos sequenciais dentro do texto como um todo, antecedida pela palavra "Figura". Exemplo: Figura 1, Figura 2, Figura 3, e assim por diante. A fonte de citação deve ser simples, situada abaixo da figura centralizada, utilizando Arial tamanho 10.

Por exemplo, figura:

Figura 1. Mapa da Cidade de São Paulo



Fonte: mapas antigos de SP: 1954

Tabela 1. Listagem parcial de loteamentos implantados pela Companhia City até 1951 na cidade e São Paulo

Nº	Nome do bairro	Área (m ²)	Ano
1	Jardim América	1.091.118	1915
2	Anhangabaú	170.849	061917
3	Butantan	2.341.379	101918
4	Alto da Lapa e Bela Aliança	2.126.643	1921
5	Pacaembu	998.130	1925
6	Alto de Pinheiros	3.669.410	1925
7	Vila América	186.200	1931
8	Vila Nova Tupi	180.000	1931

Fonte: Arquivo da companhia city, sem data.

Quadro 1. Resultados

RESULTADO	CONCURSO
3 ausentes	Técnico-Administrativo
3 deferidos	em Educação

Banca prevista, mas não realizada por que não houve candidatos autodeclarados.	Docente do Magistério Superior
Banca prevista, mas não realizada por que não houve candidatos autodeclarados.	Docente do Magistério Superior
34 ausentes 39 deferidos 1 indeferido – entrou com recurso e foi deferido	Técnico-Administrativo em Educação
Banca prevista, mas não realizada por que não houve candidatos autodeclarados.	Docente do Magistério Superior
7 ausentes 10 deferidos	Técnico-Administrativo em Educação

Fonte: Elaborado pelos autores

Figuras censuradas (íntimas), manter as tarjas se o autor mandar assim. mas caso ele não tenha colocado nas partes íntimas, manter como ele mandou. Apenas cuidar com imagem do paciente.

Imagens tirada de pessoas também devem ter a tarjas no rosto considerado a proteção da identidade com o respeito à dignidade e à liberdade individual.

Figura 2. Pessoas trabalhando



Fonte: Elaboradas pelos próprios autores.

2.2 SUBTÍTULO DE SEÇÕES

Os títulos devem estar em caixa alta, em negrito, fonte Arial, tamanho 12.

Os subtítulos devem estar em caixa alta, sem negrito, fonte Arial, tamanho 12.

Seguindo o exemplo:

Tabela 2. Sequência de formação de títulos

Tipo	Formato
Título da seção primária	1 INTRODUÇÃO
Título da seção secundária	1.1 TIPO DE PESQUISA

Título da seção terciária	1.1.1 Definição de conceitos
Título da seção quaternária	1.1.1.1 Opções de conceitos
Título da seção quinária	1.1.1.1.1 Negrito e em itálico
Título da seção senária	1.1.1.1.1.1 Sem negrito e itálico

Fonte: Studies Publicações, 2024.

As citações dentro do corpo do trabalho devem seguir as normas da ABNT.

2.3 CITAÇÃO NO TEXTO

O autor deve ser citado entre parênteses pelo sobrenome, separado por vírgula da data de publicação (Barbosa, 1980). Se o nome do autor estiver citado no texto, indica-se apenas a data entre parênteses: Moraes (1995) assinala... Quando se tratar de citação direta (transcrição literal do texto original) especificar página(s), essa(s) deverá(ão) seguir a data, separada(s) por vírgula e precedida(s) de p. (Mumford, 1949, p.513). As citações de diversas obras de um mesmo autor, publicadas no mesmo ano, devem ser discriminadas por letra minúscula após a data, sem espaçamento (Peside, 1927a) (Peside, 1927b). Quando a obra tiver dois ou três autores, separa-se por ponto e vírgula (Oliveira; Leonardo, 1943) e, quando tiver mais de quatro autores, indica-se o primeiro seguido da expressão *et al.* (Gille *et al.*, 1960). Citações até 3 linhas devem vir entre aspas, seguidas do nome do autor, data e página. Com mais de três linhas, devem vir com recuo de 4 cm na margem esquerda, corpo menor (fonte 10), espaço simples e sem aspas, também seguidas do nome do autor, data e página. As citações em língua estrangeira devem ser apresentadas na mesma língua do texto e na chamada de citação apresentar a indicação tradução nossa. Em nota de rodapé apresentar a citação em sua língua original. As expressões latinas (*idem*, *ibidem*, *passim*, *loco citato*, e *sequentia*) assim como a expressão *confira* (Cf.) não podem ser utilizadas em chamadas de citação no corpo do texto. As expressões *apud* e *et al.* podem ser utilizadas no corpo do texto e em itálico. Seguem abaixo alguns exemplos de citações:

2.3.1 Citação direta, com mais de três linhas

Recuo de 4 cm

Tamanho da fonte 10

Espaçamento simples

Deve-se deixar um espaço de 1,5 entre o restante do texto e a citação.

O alinhamento deve ser justificado.

Por exemplo:

Harvey (1993, p. 112) acrescenta a tudo isso mais um fator,

[...] enquanto abre uma perspectiva radical mediante o reconhecimento da autenticidade de outras vozes, o pensamento pós-moderno veda imediatamente essas outras vozes o acesso a fontes mais universais de poder, circunscrevendo-as num gueto de alteridade opaca, da especificidade de um ou outro jogo de linguagem.

2.3.2 Citação direta, com menos de três linhas

Segundo Prunes (2000, v. 2, p. 647-648) “a inconformidade dos demandantes, sustentado laudo pericial técnico [...]”.

2.3.3 Citação indireta

Quando se faz uma citação indireta, é preciso indicar, inicialmente, o **sobrenome do autor e depois a data de publicação da obra**. Não é obrigatória a indicação da página do trecho citado. Veja exemplos de citação indireta com apenas um autor a seguir:

Por exemplo:

Conforme Herculano (2021), para gerar tráfego orgânico é fundamental o uso de técnicas de otimização.

Conforme Herculano (2021, p. 409), o marketing de conteúdo consiste, entre outras coisas, em escrever textos com autoridade no assunto (**exemplo com indicação da página, que não é obrigatório**).

A visibilidade na internet é, muitas vezes, gerada pelo investimento em marketing digital (Herculano, 2021).

Além disso, deve-se seguir a formatação da Associação Brasileira de Normas Técnicas. Em relação à ABNT, a citação indireta se diferencia bastante da direta, pois deve ser escrita “normalmente”, ou seja, conforme o restante do corpo do texto. Veja a lista de normas:

Fonte Arial;

Tamanho 12;

Espaçamento entre linhas de 1,5;

Inserção do sobrenome do autor e ano de publicação da obra entre parênteses.

Como foi possível visualizar acima, a **citação indireta deve ser escrita conforme o restante do corpo do texto**. A única diferença é somente a “adição” do sobrenome do autor e do ano de publicação da obra entre parênteses.

2.3.4 Citação indireta dois autores

Quando a citação é de vários autores diferentes, é preciso inserir os seus sobrenomes separados por “ponto e vírgula” e seguidos dos anos de publicação da obra. A ordem dos sobrenomes deve ser cronológica e crescente. Veja como deve ser feito:

Por exemplo:

De acordo com diversos autores (Herculano, 1996; Holanda, 2010), o marketing digital é importante para o crescimento...

O marketing digital auxilia o crescimento das empresas (Herculano, 1996; Holanda, 2010).

2.3.5 Citação indireta de várias obras

Quando a citação é do mesmo autor, mas de várias obras diferentes, os anos devem ser separados por vírgulas, como é mostrado abaixo.

Por exemplo:

O marketing digital pode melhorar a comunicação entre marca e público (Herculano, 1996, 2016, 2018).

Conforme Herculano (1996, 2016, 2018), o marketing digital é uma boa estratégia para divulgação de um novo produto.

2.3.6 Citação indireta de mais de quatro autores na mesma obra

Quando uma obra possui **mais de quatro autores**, recomenda-se usar a expressão “*et al.*” ou “*e col.*”, seguida do ano de publicação. Isso serve para não precisar escrever os sobrenomes de todos os escritos do trabalho.

Por exemplo:

De acordo com Herculano *et al.* (2018) A publicação nas mídias sociais é uma nova forma de tornar uma empresa mais visível no mercado.

A publicação nas mídias sociais envolve a inserção de artes no feed e nos stories (Herculano *et al.*, 2018).

2.3.7 Citação do autor com mais de uma obra publicada no mesmo ano

Esse tipo de citação deve ser feita quando são citadas **obras publicadas em anos diferentes do mesmo autor.**

Usam-se letras minúsculas, em ordem alfabética a partir da letra a, logo após a data.

Por exemplo:

As mídias sociais tornam as empresas mais visíveis (Herculano, 1998a).

De acordo com Herculano (1998a, 1998b), as mídias sociais tornam as empresas mais visíveis.

2.3.8 Método de citação numérica

Esse é um método de citação indicado por números, como o nome já diz. Veja o exemplo logo abaixo, conforme a ABNT:

Por exemplo:

Conforme Herculano, o marketing digital é uma estratégia capaz de construir um público-alvo qualificado para a marca (2);

Conforme Herculano, as estratégias SEO podem ajudar no crescimento de uma marca².

3 METODOLOGIA

A metodologia de um artigo delinea os procedimentos empregados para conduzir a pesquisa, incluindo o tipo de estudo, a seleção da amostra, os métodos de coleta e análise de dados, considerações éticas e limitações do estudo. Sua descrição detalhada e transparente é essencial para garantir a replicabilidade e a confiabilidade dos resultados, além de proporcionar uma base sólida para a interpretação e a generalização dos achados.

3.1 FORMULAS E EQUAÇÃO

Em meio a um texto, as fórmulas e equações devem ser representadas em linha. Deve-se usar um espaçamento maior, que comporte seus elementos (expoentes, índices e outros); Quando apresentadas fora do parágrafo, são alinhada a esquerda, se houver várias fórmulas ou equações deve-se identifica-las com algarismos arábicos sequenciais ao longo do texto e entre parênteses () na extremidade direita da linha, quando divididas em mais de uma linha por falta de espaço as equações ou formulas devem ser interrompidas antes do sinal de igual “=” ou depois dos sinais de adição, subtração.

Exemplo de equação:

$$d(AB) = \frac{dV}{dH} \times 100 \quad (1)$$

onde:

d(AB)= declividade expressa em porcentagem

dV= distância vertical (equidistância)

dH = distância horizontal

Exemplo de formulas:

$$\begin{pmatrix} 1 \\ 5 \\ 2 \\ 0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 2 \\ 0 & 5 \end{pmatrix} \quad (2)$$

3.2 MARCADORES

Os Marcadores são divisões enumerativas referentes a um período do parágrafo. Observa-se a seguinte configuração:

- a) o texto anterior ao primeiro marcador termina com dois pontos;
- b) iniciam-se no recuo de parágrafo e são escritas com o entrelinhamento normal;
- c) são enumeradas com letras minúsculas ordenadas alfabeticamente, seguidas de sinal de fechamento de parenteses. Se a quantidade de marcador exceder a quantidade de letras do alfabeto, use letras dobradas: aa), ab), ac), etc.;

- d) o texto do marcador inicia-se com letra minúscula, exceto no caso de começar com nomes próprios, são encerradas com ponto e vírgula, exceto a última que é encerrada com ponto.

Como no exemplo a baixo:

- a) os espaçamentos dos marcadores são de recuo à esquerda de 0,75 por deslocamento de 0,5;
- b) os espaçamentos dos marcadores são de recuo à esquerda de 0,75 por deslocamento de 0,5;
- c) os espaçamentos dos marcadores são de recuo à esquerda de 0,75 por deslocamento de 0,5.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados e discussões de um artigo devem ser apresentados de maneira clara e organizada, com base nos dados coletados e nas análises realizadas durante o estudo. Inicialmente, os resultados devem ser apresentados de forma objetiva e concisa, utilizando tabelas, gráficos e estatísticas, se aplicável, para destacar as principais descobertas. Em seguida, na seção de discussão, os resultados são interpretados à luz da literatura existente, destacando semelhanças, diferenças e implicações para a teoria e prática.

Além disso, são discutidas as limitações do estudo e possíveis direções para pesquisas futuras. É fundamental que tanto os resultados quanto a discussão sejam fundamentados em evidências sólidas e que contribuam significativamente para o avanço do conhecimento sobre o tema abordado.

5 CONCLUSÃO

A conclusão de um artigo deve sintetizar os principais achados do estudo de forma sucinta, destacando as contribuições significativas para o campo de pesquisa. Deve reiterar os objetivos do estudo e resumir as descobertas mais importantes, enfatizando sua relevância e implicação prática ou teórica.

AGRADECIMENTOS

Seção facultativa na qual o autor pode expressar agradecimentos às agências financiadoras ou a qualquer outra entidade que tenha contribuído de maneira relevante para o desenvolvimento do trabalho.

REFERÊNCIAS

Aqui estão exemplos de referências, fonte e espaçamentos de acordo com as normas da ABNT. Lembre-se de que esses exemplos são simplificados, e você deve adaptá-los conforme as especificações da sua instituição e da norma ABNT mais recente. Com a formatação da fonte Arial, Tamanho 12, Espaçamentos simples e alinhado a esquerda. As citações devem ser colocadas em ordem alfabética.

Livros com apenas um autor

SOBRENOME, Nome. **Título**: subtítulo (se houver). Edição (se houver). Local de publicação: Editora, ano de publicação da obra.

Exemplo:

KRENAK, A. **Ideias para adiar o fim do mundo**. São Paulo: Companhia das Letras, 2019.

Livro com até três autores

SOBRENOME, Nome; SOBRENOME, Nome; SOBRENOME, Nome. **Título**: subtítulo (se houver). Edição (se houver). Local: Editora, ano de publicação.

Exemplo:

ARUZZA, C.; BHATTACHARYA, T.; FRASER, N. **Feminismo para os 99%**: um manifesto. São Paulo: Boitempo, 2019.

Livro com mais de três autores

SOBRENOME, Nome *et al.* **Título**: subtítulo (se houver). Edição (se houver). Local: Editora, ano de publicação.

Exemplo:

DILGER, G. *et al.* **Descolonizar o imaginário**: debates sobre pós-extrativismo e alternativas ao desenvolvimento. São Paulo: Fundação Roxa Luxemburgo, 2016.

Referência da Constituição Federal ou Estadual

LOCAL. Título (ano). **Descrição**. Local do órgão constituinte, ano de publicação.

Exemplo:

BRASIL. Constituição (1988). **Constituição da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF: Centro Gráfico, 1988.

Artigo de periódico ou revista

SOBRENOME, Nome abreviado. Título do artigo. **Título da Revista**, Local de publicação, número do volume, páginas inicial-final, mês e ano.

Exemplo:

KILOMBA, G. A máscara, **Revistas USP**, n. 16, p. 23-40, 2016.

Artigo em um evento

SOBRENOME, Nome. Título do trabalho apresentado. *In*: **TÍTULO DO EVENTO**, nº do evento, ano de realização, local (cidade de realização). Título do documento (anais, resumos, etc). Local: Editora, ano de publicação. Páginas inicial-final.

Exemplo:

SILVA, J. A contribuição de Paulo Freire na Pedagogia. *In: JORNADA DE PEDAGOGIA*, nº 3, 2019, Florianópolis. Resumos. Florianópolis: Editora X, 2020, p. 20-50.

Referência de monografia, dissertação ou tese

SOBRENOME, Nome. **Título**: subtítulo (se houver). Ano de apresentação. Número de folhas ou volumes. Categoria (área de concentração) – Instituição, Local, ano da defesa.

Exemplo:

CARNEIRO, A. S. **A construção do outro como não-ser como fundamento do ser**. 2005. Tese (Doutorado em Educação) – Curso de Educação – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

ANEXO B – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA – UFAPE

CEUA | Solicitação Aprovada | Pedido de nº: 31

Licença -> CEUAUFAPE2024020531

1. Dados Iniciais

Tipo: Pesquisa

Início: 09/10/2023

Fim: 01/06/2027

Título em Português: Sanidade de caprinos e ovinos na microrregião de Garanhuns/PE - Caracterização e padronização de intervenções médico-veterinárias

Título em Inglês (apenas para projeto): Health of goats and sheep in the micro-region of Garanhuns/PE - Characterization and standardization of veterinary medical disciplines

Grande Área do Conhecimento: Ciências Agrárias

Área do Conhecimento: Medicina Veterinária

Subárea do Conhecimento: Clínica e Cirurgia Animal

2. Dados do Responsável

Nome Completo: Luiz Carlos Fontes Baptista Filho

E-mail: luiz.baptista@ufape.edu.br

Telefone: (81) 98618-9406

CPF: 049.839.674-60

Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE)

Unidade: Federal | Garanhuns - PE

Departamento: Acadêmico | Garanhuns - PE

Vínculo: Docente/Pesquisador Grau de Escolaridade: Doutorado Incompleto Treinamento:

3. Dados do(s) Colaborador(es)

Nome Completo: Karen Barros da Rocha E-mail: karen.barros13@hotmail.com Telefone: (87) 98169-2989

CPF: 111.704.284-79 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de

Escolaridade: Pós-Graduação Completa Treinamento: Não Nome Completo: Bruna Lays Nicácio Pereira E-

mail: brunanicacio.bl@gmail.com Telefone: (87) 99940-3091 CPF: 701.695.404-80 Instituição:

Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Graduação Completa

Treinamento: Não Nome Completo: Taciana Rabelo Ramalho Ramos E-mail: taciana.rabelo@ufape.edu.br

Telefone: (87) 99988-6859 CPF: 681.120.334-04 Instituição: Universidade Federal do Agreste de

Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Doutorado Incompleto Treinamento: Não Nome Completo:

Sílvia Elaine Rodolfo de Sá Lorena E-mail: silvia.lorena@ufape.edu.br Telefone: (87) 98141-0000 CPF:

255.756.048-02 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de

Escolaridade: Doutorado Incompleto Treinamento: Não Nome Completo: Alisson Vinícius Mota Macedo E-

mail: alissonzootec21@gmail.com Telefone: (87) 99126-0173 CPF: 078.138.094-40 Instituição:

Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Graduação Incompleta

Treinamento: Não Nome Completo: Ana Clara Neves dos Santos E-mail: aana.clara35@gmail.com Telefone:

(81) 99389-7050 CPF: 114.414.384-59 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco

(UFAPE) Grau de Escolaridade: Graduação Incompleta Treinamento: Não Nome Completo: Ana Karolline

Cavalcanti de Albuquerque Silva E-mail: aninhacavalcanti04@gmail.com Telefone: (81) 99769-7308 CPF:

110.962.834-09 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de

Escolaridade: Graduação Incompleta Treinamento: Não Nome Completo: Ana Luiza Gomes Vanderlei E-

mail: cemluiza@gmail.com Telefone: (87) 99965-7541 CPF: 111.620.594-78 Instituição: Universidade

Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Graduação Incompleta Treinamento:

Não Nome Completo: Arthur de Almeida Meneses E-mail: arthuralmeida201602@gmail.com Telefone: (87) 98111-4643 CPF: 071.543.124-24 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Graduação Incompleta Treinamento: Não Nome Completo: Brenda Karla de Lima Santos E-mail: brendakarla_@hotmail.com Telefone: (81) 98147-2094 CPF: 107.287.504-73 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Graduação Incompleta Treinamento: Não Nome Completo: Cainã Aillén Ouriques Oliveira E-mail: cainaouriques@gmail.com Telefone: (87) 99940-4694 CPF: 059.434.793-92 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Graduação Completa Treinamento: Não Nome Completo: Iraci Cordeiro de Oliveira Neta E-mail: iracicordeirooliveira@gmail.com Telefone: (87) 99960-2798 CPF: 054.602.183-22 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Pós-Graduação Completa Treinamento: Não Nome Completo: Karine Cosme Rocha E-mail: karinerocha163@gmail.com Telefone: (87) 98458-0392 CPF: 708.710.924-33 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Pós-Graduação Incompleta Treinamento: Não Nome Completo: Luiz Carlos Pereira Cavalcante E-mail: medvetluizcarlos@gmail.com Telefone: (87) 99616-6685 CPF: 083.863.214-90 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Graduação Incompleta Treinamento: Não Nome Completo: Maria Alane Pereira Barbosa E-mail: alanebarbosa68@gmail.com Telefone: (81) 99556-0081 CPF: 124.415.514-42 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Graduação Incompleta Treinamento: Não Nome Completo: José Oriel Tavares Medeiros E-mail: medeirosleo08@gmail.com Telefone: (87) 99909-0468 CPF: 099.061.484-03 Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE) Grau de Escolaridade: Graduação Completa Treinamento: Não Nome Completo: Lúcio Esmeraldo Honório de Melo E-mail: luciomeloufrpe@gmail.com Telefone: (81) 99979-5987 CPF: 334.776.124-34 Instituição: Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) Grau de Escolaridade: Doutorado Incompleto Treinamento: Não

4. Dados Complementares

Resumo do Projeto de Pesquisa / de Extensão / de Aula Prática / de Treinamento: A caprinovinocultura é importante atividade para a economia brasileira, sendo a região nordeste a principal produtora. A atividade sofre com baixos índices produtivos e falta na padronização. Para melhorar tais índices, é essencial a prevenção de enfermidades nos animais, com o exame físico, hematologia e abordagem clínico-cirúrgica eficiente possuindo fundamental importância para definição do diagnóstico e prognóstico. Espera-se com a execução do projeto conhecer as principais enfermidades de pequenos ruminantes na microrregião de Garanhuns, a elaboração de parâmetros clínico-laboratoriais específicos da região; o desenvolvimento de um aplicativo para a anotação de dados do exame clínico; um protocolo de colheita de sangue em ovinos e caprinos com o uso de técnica que produza menor interferência em parâmetros hematológicos; e a avaliação de um protocolo de sedação alternativo com o uso do midazolam e reversão com flumazenil.

Objetivos (na íntegra): Elaborar parâmetros clínicos de normalidade em caprinos da raça Saanen e ovinos da raça Santa Inês adultos; Elaborar parâmetros clínicos de normalidade em caprinos da raça Saanen neonatos e ovinos da raça Santa Inês neonatos; Estabelecer os parâmetros hematológicos de normalidade em caprinos da raça Saanen e ovinos da raça Santa Inês adultos; Estabelecer os parâmetros hematológicos de normalidade em caprinos da raça Saanen e ovinos da raça Santa Inês neonatos; Definir parâmetros hematológicos de normalidade em caprinos da raça Saanen e ovinos da raça Santa Inês neonatos; Conhecer as principais enfermidades que acometem pequenos ruminantes criados na microrregião de Garanhuns; Elaborar aplicativo para a anotação de dados do exame clínico de caprinos e ovinos; Avaliar a influência do método de colheita de sangue em parâmetros hematológicos de caprinos e ovinos; Avaliar o efeito sedativo do midazolam em ovinos e caprinos mestiços e a sua reversão com flumazenil.

Justificativa: A caprinovinocultura é importante atividade para a economia brasileira, sendo Pernambuco um estado que se destaca como o segundo maior produtor de ovinos e caprinos no Brasil. Entretanto, a atividade sofre com baixos índices produtivos e falta na padronização. Os índices produtivos em pequenos ruminantes estão alicerçados ao tripé genética, alimentação e sanidade. Na avaliação sanitária, o exame físico e a hematologia possuem fundamental importância para definição do diagnóstico e prognosticação de enfermidades. Para que se identifique alterações, há necessidade do uso de parâmetros de referência cujos valores são deficientes diante da grande variedade entre raças e regiões. A toxicidade de algumas drogas de

uso comum em bovinos e outras espécies é ainda desconhecida em caprinos e ovinos da região, bem como o uso de protocolos alternativos de sedação, anestesia e analgesia já testados e empregados em outras espécies e raças de caprinos e ovinos.

Relevância: A detecção de enfermidades em pequenos ruminantes encontra dois principais empecilhos técnicos, que são a formação deficiente voltada para essas espécies em instituições de ensino (grande foco em bovinos) e a dificuldade na obtenção de parâmetros clínicos de normalidade, tendo em vista a grande variedade entre raças e regiões. Existe, ainda, uma dificuldade na padronização de outras atividades, como a terapia medicamentosa, estudo da toxicidade de algumas drogas de uso comum em bovinos – e que é ainda desconhecida em caprinos e ovinos – e uso de protocolos alternativos de sedação, anestesia e analgesia nessas espécies. Após padronização de parâmetros e metodologias voltadas para espécies e raças mais comuns de caprinos e ovinos na micro-região de Garanhuns, facilita-se o conhecimento dos problemas que acometem os pequenos ruminantes, sendo o primeiro passo para novas pesquisas e implementação de medidas de intervenção para avanço da atividade na região.

Referências:

5. Dados dos Modelos Animais

Modelo Animal

Nome Científico: *Ovis aries*

Nome Vulgar: Ovino

Justificar o uso da Espécie Animal Escolhida: A ovinocultura é uma importante atividade para a economia brasileira. A região nordeste é a principal produtora de ovinos. Pernambuco se destaca como o segundo maior produtor de ovinos no Brasil. A atividade sofre, especialmente na região nordeste, com baixos índices produtivos e falta na padronização do produto. Os índices produtivos em pequenos ruminantes estão alicerçados ao tripé genética, alimentação e sanidade. Após a padronização dos parâmetros de referência e metodologias diagnósticas e terapêuticas, facilita-se o conhecimento dos problemas que acometem os pequenos ruminantes, sendo o primeiro passo para novas pesquisas e implementação de medidas de intervenção para avanço da atividade na região.

Procedência

Procedência: Fazenda Tipo Animal: Ovino

Linhagem / Raça: Santa Inês

Idade: 2 | Período: Anos

Peso Aproximado: 45

Quantidade de Machos: 0

Quantidade de Fêmeas: 30

Quantidade de Total: 30

Planejamento

Número de Grupos: 2

Especificar cada grupo (controle, tratado, utilizado para treinamento, se for o caso) e número de animais por grupo: Serão utilizados dois grupos com oito animais que serão submetidos à sedação com midazolam e serão controles deles mesmos. O primeiro grupo receberá a sedação com midazolam e posterior reversão com o antagonista flumazenil, enquanto o segundo grupo (após intervalo de 15 dias) receberá o midazolam, mas não será antagonizado.

Quais critérios e / ou referências científicas foram utilizados para definir o tamanho da amostra: Outros estudos científicos.

Descrição de Materiais e Métodos: Os animais serão submetidos a jejum sólido de 12 horas, mantendo-se a água disponível ad libitum até duas horas antes da sedação. Após tricotomia e antisepsia, uma veia jugular externa de cada animal será acessada com cateter 18G, fixado e acoplado a um plug adaptador PRN. Os

grupos estudados receberão 0,6 mg/kg de midazolam por via intravenosa ao longo de 15 segundos em duas ocasiões com intervalo de 15 dias. Todos terão os scores de sedação avaliados e pontuados de acordo com uma escala. Após um período de 20 minutos, um grupo receberá 0,02 mg/kg de flumazenil por via intravenosa ao longo de 15 segundos; e o outro grupo receberá 0,02 mg/kg de solução salina por via intravenosa ao longo de 15 segundos, e os scores serão novamente reavaliados até que o animal se encontre com comportamento equivalente ao score 0 de sedação. Os animais também serão monitorados quanto aos sinais de vocalização, piloereção, salivação, timpanismo ruminal, defecação e micção.

Análise Estatística: Os dados e parâmetros estudados serão avaliados quando a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Variáveis de distribuição normal serão descritas por suas médias \pm desvio padrão, enquanto as demais serão utilizadas suas medianas. Os escores de sedação avaliados ao longo do tempo serão comparados pela análise de variância (ANOVA) por duas repetições. Os tempos de pico de sedação, tempo de retorno à estação quadrupedal serão comparados pela análise de Mantel-Cox. Todos os valores de $P < 0.05$ serão considerados significantes.

Outras Informações Relevantes: Os animais serão controles deles mesmos, visto que um grupo não será antagonizado e recuperará de forma natural, a fim de avaliar a eficácia da reversão com o flumazenil e avaliar o tempo de recuperação do midazolam, nessa dose, em ovinos. Os tempos de cada evento relevante (ataxia, decúbito, alimentação, etc.) será cronometrado e anotado para posteriores análises.

Grau de Invasividade: GI2 = Experimentos que causam estresse, desconforto ou dor, de leve intensidade

Condição Animal

Comentar obrigatoriamente sobre os itens abaixo e as demais condições que forem particulares à espécie: 1. Alimentação normal até 12h antes do experimento; 2. Água disponível ad libitum até duas horas antes do experimento; 3. Um animal por baía de 2x1,5m em baias uma ao lado da outra; 4. Sim (local aberto) Endereço e local onde será mantido o animal durante o procedimento experimental (biotério, fazenda, aviário, laboratório, outro): Fazenda Experimental da UFRPE.

Ambiente de Alojamento: Baía Tipo de Cama: Estrado

Número de Animais por Ambiente de Contenção: 1

Dimensões do Ambiente de Contenção dos Animais: 2x1,5m

Período Total de Manutenção dos Animais no Experimento: 15 dias

Profissional Responsável: Luiz Carlos Fontes Baptista Filho

E-Mail do Responsável: luiz.baptista@ufape.edu.br

Procedimento

Descreva o estresse / dor Intencional nos animais e justifique: Estresse durante contenção física para exame clínico e colheita de material biológico (sangue). Dor durante a colocação de cateter intravenoso e colheita de material biológico (sangue).

Uso de anestésicos com dose (UI ou mg/kg), via de administração:: Midazolam 5mg/mL na dose de 0,6 mg/kg IV; Flumazenil 0,5 mg/5mL na dose de 0,02 mg/kg IV.

Imobilização / Contenção do Animal: Contenção física para colocação de cateter intravenoso e colheita de material biológico (sangue).

Extração de Materiais Biológicos: Colheita de sangue pela veia jugular externa e colheita de fezes direto da ampola retal.

Jejum (em horas): 12 horas

Restrição Hídrica (em horas): 2 horas

Cirurgia

Finalização

Destino dos Animais Mortos e / ou Tecidos / Fragmentos: Não se aplica;

Forma de Descarte da Carcaça: Não se aplica.

Destino dos animais sobreviventes após a conclusão do experimento / aula ou retirados no decorrer do experimento / aula: Os animais retornarão ao rebanho de convívio habitual da Fazenda Experimental. Outras Informações Relevantes: Justificativa da não utilização de métodos alternativos e da necessidade do uso de animais: Os parâmetros a serem avaliados dependem de variáveis fisiológicas inerentes às espécies, raças e indivíduos em questão. Resumo do procedimento (relatar todos os procedimentos com os animais): Os animais selecionados serão pesados, passarão por tricotomia e serão separados dos demais em baias individuais, sendo submetidos a jejum sólido e hídrico. Na primeira ocasião, o grupo receberá midazolam por via intravenosa ao longo de 15 segundos. Após 20 minutos, receberá o antagonista flumazenil por via intravenosa ao longo de 15 segundos. Após 15 dias, na segunda ocasião, o mesmo grupo receberá novamente o midazolam por via intravenosa ao longo de 15 segundos. Após 20 minutos, receberá no lugar do antagonista flumazenil, o volume equivalente de solução fisiológica por via intravenosa ao longo de 15 segundos. Nas duas etapas, os animais serão avaliados mediante o uso de uma escala de sedação, e cronometrados e anotados os eventos mais relevantes. Após os animais retornarem ao escore 0 da escala (comportamento normal), em ambas as ocasiões, será fornecida alimentação e água novamente e os animais voltarão ao rebanho de convívio habitual.

Modelo Animal

Nome Científico: *Ovis aries*

Nome Vulgar: Ovino

Justificar o uso da Espécie Animal Escolhida: A ovinocultura é uma importante atividade para a economia brasileira. A região nordeste é a principal produtora de ovinos. Pernambuco se destaca como o segundo maior produtor de ovinos no Brasil. A atividade sofre, especialmente na região nordeste, com baixos índices produtivos e falta na padronização do produto. Os índices produtivos em pequenos ruminantes estão alicerçados ao tripé genética, alimentação e sanidade. Após a padronização dos parâmetros de referência e metodologias diagnósticas e terapêuticas, facilita-se o conhecimento dos problemas que acometem os pequenos ruminantes, sendo o primeiro passo para novas pesquisas e implementação de medidas de intervenção para avanço da atividade na região.

Procedência

Procedência: Fazenda Tipo Animal: Ovino

Linhagem / Raça: Santa Inês

Idade: 30 | Período: Dias

Peso Aproximado: 7 kg

Quantidade de Machos: 10

Quantidade de Fêmeas: 10

Quantidade de Total: 20

Planejamento

Número de Grupos: 1

Especificar cada grupo (controle, tratado, utilizado para treinamento, se for o caso) e número de animais por grupo: Como o estudo será para obtenção dos valores de referência e observação da dinâmica hematológica de neonatos, eles serão seus próprios controles. Para isso serão utilizados 20 animais.

Quais critérios e / ou referências científicas foram utilizados para definir o tamanho da amostra: Foi utilizado artigo científico para definir o tamanho da amostra, sendo ele: ARFUSO, F. et al. Daily dynamic changes of blood acid-base status and vital parameters in lambs and goat kids over the first seven days after birth. *Small Ruminant Research*, v. 197, 5 p., 2021.

Descrição de Materiais e Métodos: Serão utilizados 20 cordeiros de raças nativas e mestiças de nativas de ambos os sexos, oriundos de criatórios da microrregião de Garanhuns – PE. As fêmeas gestantes deverão possuir idade entre 2 e 5 anos, clinicamente saudáveis, que não apresentem problemas no parto, e que sejam criadas de forma extensiva. Após o nascimento, os cordeiros serão submetidos ao exame físico e

hematológico desde o primeiro dia do nascimento (D-1) e diariamente para os 6 dias subsequentes (D-2 a D-7), no dia 15 (D-15) e no dia 30 (D-30). Será realizado a mensuração da temperatura retal (TR), frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), avaliação de linfonodos superficiais e colheita de sangue em todos os tempos de avaliação.

Análise Estatística: Será avaliado se os constituintes do hemograma apresentarão distribuição paramétrica, segundo o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Serão calculadas as médias aritméticas, desvios-padrão, e a comparação entre médias dos grupos pelo teste de Tukey, usando o software estatístico SPSS 20.0 (Microsoft®), para avaliação da diferença ($p > 0,05$) dos parâmetros em diferentes faixas etárias. Os valores de referência serão determinados por cálculo dos percentis entre 2,5 e 97,5 (intervalo de confiança de 95%)

Outras Informações Relevantes: Sem mais informações.

Grau de Invasividade: GII = Experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse

Condição Animal

Comentar obrigatoriamente sobre os itens abaixo e as demais condições que forem particulares à espécie: 1. Alimentação fornecida duas vezes ao dia; 2. Água disponível ad libitum; 3. Uma fêmea com seu/seus filhote/filhotes por baía de 2x1,5m em baias uma ao lado da outra; 4. Sim (local aberto)

Endereço e local onde será mantido o animal durante o procedimento experimental (biotério, fazenda, aviário, laboratório, outro): Fazenda Experimental da UFRPE.

Ambiente de Alojamento: Baía Tipo de Cama: Estrado

Número de Animais por Ambiente de Contenção: 2

Dimensões do Ambiente de Contenção dos Animais: 2x1,5m

Período Total de Manutenção dos Animais no Experimento: 35 dias

Profissional Responsável: Luiz Carlos Fontes Baptista Filho

E-Mail do Responsável: luiz.baptista@ufape.edu.br

Procedimento

Imobilização / Contenção do Animal: Contenção mecânica (Cabresto), para avaliação física e colheita de sangue.

Extração de Materiais Biológicos: Colheita de sangue por venopunção jugular.

Cirurgia

Finalização

Destino dos Animais Mortos e / ou Tecidos / Fragmentos: Lixo biológico.

Forma de Descarte da Carcaça: Não se aplica

Destino dos animais sobreviventes após a conclusão do experimento / aula ou retirados no decorrer do experimento / aula: Os animais retornarão ao rebanho de convívio habitual da Fazenda Experimental. Outras Informações Relevantes: Justificativa da não utilização de métodos alternativos e da necessidade do uso de animais: Os parâmetros a serem avaliados dependem de variáveis fisiológicas inerentes às espécies, raças e indivíduos em questão. Resumo do procedimento (relatar todos os procedimentos com os animais): Os animais selecionados serão acompanhados por ultrassonografia retal e separados 5 dias antes da proximidade do parto, e serão acompanhadas para observação de possíveis intercorrências. Caso não haja intercorrências no parto e os cordeiros estejam saudáveis, serão submetidos a colheita de sangue e exame físico nos dias 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 15 e 30, totalizando 9 intervenções.

Modelo Animal

Nome Científico: Capra hircus

Nome Vulgar: Caprino

Justificar o uso da Espécie Animal Escolhida: A caprinocultura é uma importante atividade para a economia brasileira. A região nordeste é a principal produtora de caprinos. Pernambuco se destaca como o segundo maior produtor de caprinos no Brasil. A atividade sofre, especialmente na região nordeste, com baixos índices produtivos e falta na padronização do produto. Os índices produtivos em pequenos ruminantes estão alicerçados ao tripé genética, alimentação e sanidade. Após a padronização dos parâmetros de referência e metodologias diagnósticas e terapêuticas, facilita-se o conhecimento dos problemas que acometem os pequenos ruminantes, sendo o primeiro passo para novas pesquisas e implementação de medidas de intervenção para avanço da atividade na região.

Procedência

Procedência: Fazenda Tipo Animal: Caprino
 Linhagem / Raça: Saanen
 Idade: 2 | Período: Anos
 Peso Aproximado: 35 kg
 Quantidade de Machos: 15
 Quantidade de Fêmeas: 15
 Quantidade de Total: 30

Planejamento

Número de Grupos: 2

Especificar cada grupo (controle, tratado, utilizado para treinamento, se for o caso) e número de animais por grupo: Serão utilizados dois grupos com oito animais que serão submetidos à sedação com midazolam e serão controles deles mesmos. O primeiro grupo receberá a sedação com midazolam e posterior reversão com o antagonista flumazenil, enquanto o segundo grupo (após intervalo de 15 dias) receberá o midazolam, mas não será antagonizado.

Quais critérios e / ou referências científicas foram utilizados para definir o tamanho da amostra: Outros artigos científicos.

Descrição de Materiais e Métodos: Os animais serão submetidos a jejum sólido de 12 horas, mantendo-se a água disponível ad libitum até duas horas antes da sedação. Após tricotomia e antissepsia, uma veia jugular externa de cada animal será acessada com cateter 18G, fixado e acoplado a um plug adaptador PRN. Os grupos estudados receberão 0,6 mg/kg de midazolam por via intravenosa ao longo de 15 segundos em duas ocasiões com intervalo de 15 dias. Todos terão os scores de sedação avaliados e pontuados de acordo com uma escala. Após um período de 20 minutos, um grupo receberá 0,02 mg/kg de flumazenil por via intravenosa ao longo de 15 segundos; e o outro grupo receberá 0,02 mg/kg de solução salina por via intravenosa ao longo de 15 segundos, e os scores serão novamente reavaliados até que o animal se encontre com comportamento equivalente ao score 0 de sedação. Os animais também serão monitorados quanto aos sinais de vocalização, piloereção, salivação, timpanismo ruminal, defecação e micção.

Análise Estatística: Os dados e parâmetros estudados serão avaliados quando a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Variáveis de distribuição normal serão descritas por suas médias \pm desvio padrão, enquanto as demais serão utilizadas suas medianas. Os escores de sedação avaliados ao longo do tempo serão comparados pela análise de variância (ANOVA) por duas repetições. Os tempos de pico de sedação, tempo de retorno à estação quadrupedal serão comparados pela análise de Mantel-Cox. Todos os valores de $P < 0.05$ serão considerados significantes.

Outras Informações Relevantes: Os animais serão controles deles mesmos, visto que um grupo não será antagonizado e recuperará de forma natural, a fim de avaliar a eficácia da reversão com o flumazenil e avaliar o tempo de recuperação do midazolam, nessa dose, em caprinos. Os tempos de cada evento relevante (ataxia, decúbito, alimentação, etc.) será cronometrado e anotado para posteriores análises.

Grau de Invasividade: GI2 = Experimentos que causam estresse, desconforto ou dor, de leve intensidade

Condição Animal

Comentar obrigatoriamente sobre os itens abaixo e as demais condições que forem particulares à espécie: 1. Alimentação normal até 12h antes do experimento; 2. Água disponível ad libitum até duas horas antes do experimento; 3. Um animal por baia de 2x1,5m em baias uma ao lado da outra; 4. Sim (local aberto)
Endereço e local onde será mantido o animal durante o procedimento experimental (biotério, fazenda, aviário, laboratório, outro): Fazenda Experimental da UFRPE.
Ambiente de Alojamento: Baia Tipo de Cama: Estrado
Número de Animais por Ambiente de Contenção: 1
Dimensões do Ambiente de Contenção dos Animais: 2x1,5m
Período Total de Manutenção dos Animais no Experimento: 15 dias
Profissional Responsável: Luiz Carlos Fontes Baptista Filho
E-Mail do Responsável: luiz.baptista@ufape.edu.br

Procedimento

Descreva o estresse / dor Intencional nos animais e justifique: Estresse durante contenção física para exame clínico e colheita de material biológico (sangue). Dor durante a colocação de cateter intravenoso e colheita de material biológico (sangue).

Uso de anestésicos com dose (UI ou mg/kg), via de administração:: Midazolam 5mg/mL na dose de 0,6 mg/kg IV; Flumazenil 0,5 mg/5mL na dose de 0,02 mg/kg IV.

Imobilização / Contenção do Animal: Contenção física para colocação de cateter intravenoso e colheita de material biológico (sangue).

Extração de Materiais Biológicos: Colheita de sangue pela veia jugular externa e colheita de fezes direto da ampola retal.

Jejum (em horas): 12 horas

Restrição Hídrica (em horas): 2 horas

Cirurgia

Finalização

Destino dos Animais Mortos e / ou Tecidos / Fragmentos: Não se aplica.

Forma de Descarte da Carcaça: Não se aplica.

Destino dos animais sobreviventes após a conclusão do experimento / aula ou retirados no decorrer do experimento / aula: Os animais retornarão ao rebanho de convívio habitual da Fazenda Experimental. Outras Informações Relevantes: Justificativa da não utilização de métodos alternativos e da necessidade do uso de animais: Os parâmetros a serem avaliados dependem de variáveis fisiológicas inerentes às espécies, raças e indivíduos em questão. Resumo do procedimento (relatar todos os procedimentos com os animais): Os animais selecionados serão pesados, passarão por tricotomia e serão separados dos demais em baias individuais, sendo submetidos a jejum sólido e hídrico. Na primeira ocasião, o grupo receberá midazolam por via intravenosa ao longo de 15 segundos. Após 20 minutos, receberá o antagonista flumazenil por via intravenosa ao longo de 15 segundos. Após 15 dias, na segunda ocasião, o mesmo grupo receberá novamente o midazolam por via intravenosa ao longo de 15 segundos. Após 20 minutos, receberá no lugar do antagonista flumazenil, o volume equivalente de solução fisiológica por via intravenosa ao longo de 15 segundos. Nas duas etapas, os animais serão avaliados mediante o uso de uma escala de sedação, e cronometrados e anotados os eventos mais relevantes. Após os animais retornarem ao escore 0 da escala (comportamento normal), em ambas as ocasiões, será fornecida alimentação e água novamente e os animais voltarão ao rebanho de convívio habitual.

Modelo Animal

Nome Científico: Capra hircus

Nome Vulgar: Caprino

Justificar o uso da Espécie Animal Escolhida: A caprinocultura é uma importante atividade para a economia brasileira. A região nordeste é a principal produtora de caprinos. Pernambuco se destaca como o segundo maior produtor de caprinos no Brasil. A atividade sofre, especialmente na região nordeste, com baixos índices produtivos e falta na padronização do produto. Os índices produtivos em pequenos ruminantes estão alicerçados ao tripé genética, alimentação e sanidade. Após a padronização dos parâmetros de referência e metodologias diagnósticas e terapêuticas, facilita-se o conhecimento dos problemas que acometem os pequenos ruminantes, sendo o primeiro passo para novas pesquisas e implementação de medidas de intervenção para avanço da atividade na região.

Procedência

Procedência: Fazenda Tipo Animal: Caprino
 Linhagem / Raça: Saanen
 Idade: 30 | Período: Dias
 Peso Aproximado: 7 kg
 Quantidade de Machos: 10
 Quantidade de Fêmeas: 10
 Quantidade de Total: 20

Planejamento

Número de Grupos: 1

Especificar cada grupo (controle, tratado, utilizado para treinamento, se for o caso) e número de animais por grupo: Como o estudo será para obtenção dos valores de referência e observação da dinâmica hematológica de neonatos, eles serão seus próprios controles. Para isso serão utilizados 20 animais.

Quais critérios e / ou referências científicas foram utilizados para definir o tamanho da amostra: Foi utilizado artigo científico para definir o tamanho da amostra, sendo ele: ARFUSO, F. et al. Daily dynamic changes of blood acid-base status and vital parameters in lambs and goat kids over the first seven days after birth. *Small Ruminant Research*, v. 197, 5 p., 2021.

Descrição de Materiais e Métodos: Serão utilizados 20 cabritos saanen de ambos os sexos, oriundos de criatórios da microrregião de Garanhuns – PE. As fêmeas gestantes deverão possuir idade entre 2 e 5 anos, clinicamente saudáveis, que não apresentem problemas no parto, e que sejam criadas de forma extensiva. Após o nascimento, os cabritos serão submetidos ao exame físico e hematológico desde o primeiro dia do nascimento (D-1) e diariamente para os 6 dias subsequentes (D-2 a D-7), no dia 15 (D-15) e no dia 30 (D-30). Será realizado a mensuração da temperatura retal (TR), frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), avaliação de linfonodos superficiais e colheita de sangue em todos os tempos de avaliação.

Análise Estatística: Será avaliado se os constituintes do hemograma apresentarão distribuição paramétrica, segundo o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Serão calculadas as médias aritméticas, desvios-padrão, e a comparação entre médias dos grupos pelo teste de Tukey, usando o software estatístico SPSS 20.0 (Microsoft®), para avaliação da diferença ($p > 0,05$) dos parâmetros em diferentes faixas etárias. Os valores de referência serão determinados por cálculo dos percentis entre 2,5 e 97,5 (intervalo de confiança de 95%)

Outras Informações Relevantes: Sem mais informações.

Grau de Invasividade: GII = Experimentos que causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse

Condição Animal

Comentar obrigatoriamente sobre os itens abaixo e as demais condições que forem particulares à espécie: 1.

Alimentação fornecida duas vezes ao dia; 2. Água disponível ad libitum; 3. Uma fêmea com seu/seus filhote/filhotes por baía de 2x1,5m em baias uma ao lado da outra; 4. Sim (local aberto)

Endereço e local onde será mantido o animal durante o procedimento experimental (biotério, fazenda, aviário, laboratório, outro): Fazenda Experimental da UFRPE.

Ambiente de Alojamento: Baía Tipo de Cama: Estrado

Número de Animais por Ambiente de Contenção: 2

Dimensões do Ambiente de Contenção dos Animais: 2x1,5m
Período Total de Manutenção dos Animais no Experimento: 35 dias
Profissional Responsável: Luiz Carlos Fontes Baptista Filho
E-Mail do Responsável: luiz.baptista@ufape.edu.br

Procedimento

Imobilização / Contenção do Animal: Contenção mecânica (Cabresto), para avaliação física e colheita de sangue.

Extração de Materiais Biológicos: Colheita de sangue por venopunção jugular.

Cirurgia

Finalização

Destino dos Animais Mortos e / ou Tecidos / Fragmentos: Lixo biológico.

Forma de Descarte da Carcaça: Não se aplica;

Destino dos animais sobreviventes após a conclusão do experimento / aula ou retirados no decorrer do experimento / aula: Os animais retornarão ao rebanho de convívio habitual da Fazenda Experimental. Outras Informações Relevantes: Justificativa da não utilização de métodos alternativos e da necessidade do uso de animais: Os parâmetros a serem avaliados dependem de variáveis fisiológicas inerentes às espécies, raças e indivíduos em questão. Resumo do procedimento (relatar todos os procedimentos com os animais): Os animais selecionados serão acompanhados por ultrassonografia retal e separados 5 dias antes da proximidade do parto, e serão acompanhadas para observação de possíveis intercorrências. Caso não haja intercorrências no parto e os cabritos estejam saudáveis, serão submetidos a colheita de sangue e exame físico nos dias 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 15 e 30, totalizando 9 intervenções.