

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**ESCOLA DE VETERINÁRIA**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA**

Carlos Eduardo Silveira Goulart  
CRMV-MG 4862

**Valores hematológicos de referência para papagaios-verdadeiros  
(*Amazona aestiva* – Psittacidae) mantidos em cativeiro.**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área: Medicina Veterinária Preventiva.

Orientadora: Lygia Maria Friche Passos

Belo Horizonte, Junho de 2006

(ficha catalográfica)

Dissertação defendida e aprovada em 30 de Junho do ano de 2006, pela Comissão Examinadora constituída por:

---

**Prof. Lygia Maria Friche Passos**  
(Orientadora)

---

**Prof. Nelson Rodrigo da Silva Martins**

---

**Prof. Roberto Becht Flatschart**

---

**Prof. José Sérgio de Resende**



### **Agradecimentos:**

À família, indiscutivelmente. A família é o nosso alicerce. Mas além de alicerce tem aqueles que são também pilares de nossa sustentação. Sustentam ao meu lado, as cargas que a vida deposita sobre nós. Meus pilares são minha esposa e meu filho.

Em seguida, agradeço as pessoas que imprimiram em mim, marcas impagáveis e inapagáveis. Aos meus amigos, irmãos-de-alma da equipe Atol Brasil, pois ali os ideais foram plantados e começaram a tomar forma. Mais tarde vieram aqueles que além de ensinar, também dividiram a paixão. Neste rol, não posso deixar de mencionar nomes: os colegas José Sérgio de Resende, Nelson Rodrigo S. Martins, Paulo Roberto de Oliveira, Rubens Carneiro, Cassius Catão Gomes Jardim, Zalmir Silvino Cubas; e também ao biólogo Celso D'amato Baeta Neves, este que a muito me abriu a primeira oportunidade, ainda em 1992, de estar com as aves de bico torto. O primeiro passo desta longa caminhada que agora resulta nesta dissertação.

Finalmente, e não menos importante, àqueles que tornaram possível este trabalho: Minha orientadora Lygia Maria Friche Passos e meus colegas de laboratório, por acreditarem e investirem neste tema – animais silvestres, tão pouco ortodoxo para os atuais padrões da pesquisa veterinária; Ao Vale Verde Parque Ecológico, na pessoa do Dr. Luiz Otávio P. Gonçalves e do biólogo Paulo Machado, pessoas dedicadas ao trabalho de conservação das nossas espécies; e ao fundamental apoio dos meus estagiários e estagiárias, muitos destes hoje colegas de profissão. Foram tantos que não posso cometer a indelicadeza de citar alguns nomes sem citar todos. Mas sei que todos sabem que carrego cada um comigo em profundo agradecimento. Todos carregam a marca deste trabalho. Não só nos dedos, alvo de inúmeras e dolorosas bicadas, mas também no coração.

A todos vocês, meu muito obrigado e que o Grande.: Arquiteto.: do.: Universo.: possa sempre estar ao nosso lado.

Carlos Eduardo Silveira Goulart.:

---

## SUMÁRIO

---

<b>RESUMO.....</b>	<b>7</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>10</b>
2.1. SISTEMÁTICA, TAXONOMIA E BIOLOGIA GERAL.....	10
2.2. SANGUE.....	11
2.2.1. Eritrócitos.....	11
2.2.2. Trombócitos.....	15
2.2.3. Leucócitos.....	16
2.2.3.1. Neutrófilo.....	16
2.2.3.2. Heterófilo.....	16
2.2.3.3. Eosinófilo.....	17
2.2.3.4. Basófilo.....	18
2.2.3.5. Granulócitos imaturos.....	18
2.2.3.6. Monócito.....	18
2.2.3.7. Linfócitos.....	20
2.2.4. Hemoparasitas.....	21
2.2.5. Valores hematológicos de referência de <i>A. aestiva</i> .....	23
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>26</b>
3.1. LOCAL DO ESTUDO.....	26
3.2. AMOSTRA ESTUDADA.....	26
3.3. INSTALAÇÕES, MANEJO E CONTROLE SANITÁRIO DAS AVES.....	26
3.4. PERÍODO DE COLETA DO MATERIAL.....	27
3.5. AVALIAÇÃO CLÍNICA E COLETA DE SANGUE.....	28
3.6. EXAMES LABORATORIAIS.....	29
3.7. MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	31
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
4.1. SÉRIE ERITROCÍTICA.....	31
4.1.1. Eritrometria.....	31
4.1.2. Eritrócitos imaturos.....	33
4.1.3. Alterações morfológicas.....	35
4.2. TROMBÓCITOS.....	37
4.2.1. Características morfológicas.....	39
4.3. SÉRIE LEUCOCÍTICA.....	40
4.3.1. Leucometria.....	40
4.3.2. Granuloblastos.....	40
4.3.3. Características morfológicas dos leucócitos.....	42
4.3.3.1. O heterófilo.....	42
4.3.3.2. O eosinófilo.....	43
4.3.3.3. O basófilo.....	43
4.3.3.4. O linfócito.....	44
4.3.3.5. O monócito.....	47

4.4.	AVALIAÇÃO HEMOPARASITÁRIA.....	48
4.4.1.	Correlação entre o estado sanitário de aves parasitadas e não parasitadas .....	49
4.4.2.	Correlação entre a função reprodutiva de aves parasitadas e aves não parasitadas.....	49
4.4.3.	Correlação entre o hemograma de aves parasitadas e aves não parasitadas. ....	49
<b>5.</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>54</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>55</b>

#### LISTA DE ANEXOS

Anexo I	Informação geral sobre os papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	59
Anexo II	Eritrometria dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	60
Anexo III	Policromasia nas amostras sanguíneas de papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	61
Anexo IV	Trombocitometria e caracterização morfológica de trombócitos, nas amostras sanguíneas dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	62
Anexo V	Caracterização morfológica dos trombócitos, quanto ao número de vacuolizações, dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	63
Anexo VI	Leucometria dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	64
Anexo VII	Granuloblastometria nas amostras de sangue periférico dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	65
Anexo VIII	Caracterização dos heterófilos, quanto à morfologia nuclear, dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	66
Anexo IX	Caracterização dos eosinófilos, quanto à morfologia nuclear, dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	67
Anexo X	Caracterização dos basófilos, quanto à morfologia nuclear, dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	68
Anexo XI	Caracterização morfológica de linfócitos, dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	69
Anexo XII	Hemoparasitemia nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	70
Anexo XIII	Comparação entre sexos, das variáveis hematológicas dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58) pelo Teste T, fixando-se o índice de confiança em 95%. ....	71
Anexo XIV	Comparação entre aves parasitadas (n=17) e não parasitadas (n=41), das variáveis hematológicas pelo Teste T, fixando-se o índice de confiança em 95%. ....	72
Anexo XV	Valores hematológicos de referência para papagaios-verdadeiros ( <i>Amazona aestiva</i> – Psittacidae) mantidos em cativeiro (N=58). ....	73

---

LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1	Categorização dos graus de policromasia em esfregaço sanguíneo corado pelos métodos de Romanowisk .....	14
Tabela 2	Valores de referência para hemograma de <i>Amazona aestiva</i> em cativeiro. ....	24
Tabela 3	Valores de referência para hemograma de <i>Psittaciformes</i> . ....	24
Tabela 4	Valores Fisiológicos de referência: <i>Amazona aestiva</i> .....	25
Tabela 5	Categorização do escore corporal do papagaio-verdadeiro.....	28
Tabela 6	Categorização dos elementos da linhagem eritrocítica em esfregaço sanguíneo corado pelos métodos de Romanowisk .....	30
Tabela 7	Classificação do grau de anisocitose ou poiquilocitose .....	31
Tabela 8	Eritrograma dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	32
Tabela 9	Policromasia nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	34
Tabela 10	Policromasia relativa, sobre eritrócitos totais nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	34
Tabela 11	Contagem absoluta de trombócitos nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	38
Tabela 12	Caracterização morfológica dos trombócitos, quanto aos perfis celulares e nucleares, observada nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	38
Tabela 13	Caracterização morfológica dos trombócitos, quanto ao número de vacuolizações, observada nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	38
Tabela 14	Leucograma dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	39
Tabela 15	Contagem de granuloblastos nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ...	40
Tabela 16	Caracterização dos heterófilos, quanto à morfologia nuclear, nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	41
Tabela 17	Caracterização dos eosinófilos, quanto à morfologia nuclear, nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	42
Tabela 18	Caracterização dos basófilos, quanto à morfologia nuclear, nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	43
Tabela 19	Caracterização dos linfócitos por categoria nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	45
Tabela 20	Caracterização dos linfócitos por atípicas celulares, nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	45
Tabela 21	Tabela 21: Caracterização da ocorrência do hemoparasitismo por <i>Plasmodium sp.</i> nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58). ....	48
Tabela 22	Avaliação da parasitemia por <i>Plasmodium sp.</i> nos papagaios-verdadeiros infectados (n =17). ....	48
Tabela 23	Comparação entre a contagem de eritrócitos policromáticos de papagaios-verdadeiros parasitados por <i>Plasmodium sp.</i> e não parasitados (N=58). ....	49

---

LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1	Eritrócitos típicos do papagaio-verdadeiro .....	32
Figura 2	Rubrícito do papagaio-verdadeiro. Notar maior volume citoplasmático, menor basofilia e ausência do nucléolo .....	33
Figura 3	Metarubrícito (A); eritrócito policromático jovem (B) e eritrócito policromático avançado (B) de papagaio-verdadeiro .....	33
Figura 4	Eritrócito em mitose no sangue periférico de <i>Amazona aestiva</i> .....	35
Figura 5	Eritroplastídeo de papagaio-verdadeiro .....	35
Figura 6	Trombócito típico do papagaio-verdadeiro .....	36
Figura 7	Trombócito de papagaio-verdadeiro contendo um grande vacúolo citoplasmático .....	37
Figura 8	Trombócito reativo no esfregaço sanguíneo do papagaio-verdadeiro .....	37
Figura 9	Promielócito do papagaio-verdadeiro. ....	40
Figura 10	Mesomielócito do papagaio-verdadeiro. ....	40
Figura 11	Heterófilo do papagaio-verdadeiro. ....	41
Figura 12	Eosinófilo do papagaio-verdadeiro. ....	42
Figura 13	Basófilo do papagaio-verdadeiro. ....	43
Figura 14	Linfócito pequeno ou típico (A) e linfócito médio (B) do papagaio-verdadeiro	44
Figura 15	Linfócito atípico de papagaio-verdadeiro. ....	44
Figura 16	Linfócito de papagaio-verdadeiro, com aspecto amebóide. ....	45
Figura 17	Monócito típico do papagaio-verdadeiro .....	46
Figura 18	Monócito (A) e linfócito (B) do papagaio-verdadeiro. ....	47
Figura 19	Eritrócito de papagaio-verdadeiro, apresentando um trofozoítio de <i>Plasmodium sp.</i> (seta). ....	47

## RESUMO

O presente trabalho objetivou descrever valores e aspectos que possam servir como parâmetros de referência fisiológica para a hematologia do papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva* - Psittacidae), bem como determinar a ocorrência de hemoparasitoses em um criatório comercial estabelecido em Betim – Minas Gerais, Brasil. Para tanto utilizaram-se 58 (cinquenta e oito) papagaios-verdadeiros (*A. aestiva*) cativos a pelo menos três anos, adultos, de ambos os sexos e em condições adequadas de saúde. Após análises estatísticas dos dados, foram obtidos os seguintes parâmetros fundamentais (Média  $\pm$  Desvio Padrão): Hemácias ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ):  $2,54 \pm 0,45$ ; Hemoglobina (g/dL):  $16,28 \pm 1,13$ ; Hematócrito (%):  $44,66 \pm 4,45$ ; Volume corpuscular médio ( $\mu\text{m}^3$  ou fL):  $179,99 \pm 32,15$ ; Hemoglobina corpuscular média ( $\mu\text{g}$  ou pg):  $65,50 \pm 8,15$ ; Concentração hemoglobina corpuscular média (g/dL ou %):  $36,51 \pm 2,90$ ; Eritrócitos imaturos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $32,06 \pm 1,85$ ; Trombócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $16,61 \pm 7,45$ ; Leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $7,01 \pm 4,15$ ; Heterófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $3,40 \pm 2,05$ ; Linfócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $3,37 \pm 2,83$ ; Monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $0,16 \pm 0,16$ ; Basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $0,08 \pm 0,09$ ; Eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $0,02 \pm 0,05$ ; Granuloblastos ( $\times /\text{mm}^3$ ):  $37,95 \pm 84,17$ . Também foram avaliados parâmetros referenciais para subpopulações de eritroblastos e granuloblastos no sangue periférico, bem como características morfológicas das subpopulações de leucócitos e trombócitos. Neste estudo, observou-se a ocorrência de 29,31% de aves hemoparasitadas por *Plasmodium sp.* com parasitemia de  $0,031\% \pm 0,031\%$ . Não foram observadas diferenças significantes entre: sexos; parâmetros clínicos e reprodutivos. Quanto ao hemograma, não se evidenciou diferença relevante nos parâmetros hematológicos entre sexos, exceto para os parâmetros de contagem dos eritrócitos policromáticos jovens e eritrócitos policromáticos avançados ( $P = 0,004$  e  $0,025$  respectivamente).

Palavras-Chave: Papagaio-verdadeiro, *Amazona aestiva*, hematologia, hemograma, hemoparasitas, *Plasmodium sp.*

## ABSTRACT

The present work aimed to describing values and aspects that can serve as parameters of physiological reference for the hematology of the blue-fronted-parrot (*Amazona aestiva* - Psittacidae), as well as determining the occurrence of hemoparasites, in an established commercial breeder in Betim - Minas Gerais, Brazil. Fifty eight blue-fronted-parrot (*Amazona aestiva*) on captivity for at least three years, adults, of both sex and in adequate conditions of health were used. After an statistics analysis of the results, the following basic parameters were found (Mean  $\pm$  Standard Derivation): Erythrocytes ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ):  $2,54 + 0,45$ ; Hemoglobin (g/dL):  $16,28 + 1,13$ ; Hematocrit (%):  $44,66 + 4,45$ ; Mean corpuscular volume ( $\mu^3$  ou fL):  $179,99 + 32,15$ ; Mean corpuscular hemoglobin ( $\mu\text{g}$  ou pg):  $65,50 + 8,15$ ; Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL or %):  $36,51 + 2,90$ ; immature erythrocytes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $32,06 + 1,85$ ; Thrombocytes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $16,61 + 7,45$ ; Leukocytes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $7,01 + 4,15$ ; Heterphils ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $3,40 \pm 2,05$ ; Lymphocytes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $3,37 \pm 2,83$ ; Monocytes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $0,16 + 0,16$ ; Basophils ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $0,08 + 0,09$ ; Eosinophils ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ):  $0,02 + 0,05$ ; immature granulocytes ( $\times /\text{mm}^3$ ):  $37,95 + 84,17$ . Parameters for subpopulations of immature erythrocytes and immature granulocytes in the peripheral blood, as well as morphologic characteristics of the subpopulations of leukocytes and thrombocytes were also evaluated. The occurrence of *Plasmodium sp.* in peripheral blood occurred in 29,31% of birds, and the parasitemy was  $0,031\% \pm 0,031\%$ . Significant differences had not been observed between: sex; clinical and reproductive parameters. There was no statistical difference on hematological parameters between both groups (with or without *Plasmodium sp.*), except for the parameters of counting of juvenile polychromatic erythrocytes and advanced polychromatic erythrocytes ( $P = 0,004$  and  $0,025$  respectively).

Keywords: Blue-fronted-parrot, *Amazona aestiva*, hematology, hemogram, hemoparasites, *Plasmodium sp.*

## 1. INTRODUÇÃO

O sangue é um tecido de matriz fluida, cuja função é estabelecer contato entre as diversas partes do organismo animal servindo como meio de troca e transporte de substâncias essenciais à vida. Além disto, é pelo sangue que o sistema imune pode exercer o papel de defender o organismo frente a invasões diversas. A compreensão da dinâmica deste tecido e a inter-relação deste com os demais órgãos e sistemas, nos permite estabelecer parâmetros que podem ser considerados fundamentais para a avaliação do estado de saúde de um organismo (JAIN; FELDMAN e ZINKL, 2000; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999)

A hematologia é o ramo da ciência que busca compreender mecanismos fisiológicos relacionados ao sangue e estabelecer parâmetros de referência. O hemograma é uma poderosa ferramenta de diagnóstico complementar, podendo oferecer valiosas informações para o esclarecimento do problema clínico. Entretanto, para o clínico de animais silvestres, esta demanda tem sido reprimida pelo parco conhecimento acerca da hematologia destas espécies. As informações de literatura são escassas e boa parte dos estudos publicados, apresenta parâmetros incertos, métodos ou amostragem questionáveis ou resultados relacionados a uma realidade distinta, como de aves de vida livre. Sem a devida base de referência, a interpretação de um hemograma torna-se uma tarefa difícil. Tal adversidade pode resultar em diagnóstico incorreto e conseqüentemente, dificuldades na resolução de problemas.

Muitas espécies consideradas silvestres vêm sendo criadas para servir como animais domésticos. Com isto, a clínica veterinária vem atendendo a um número

cada vez maior dos chamados “novos pets”. Entretanto, o clínico veterinário se vê diante de dificuldades por não contar com parâmetros de referência adequados a esta nova realidade: animais silvestres agora mantidos em condições artificiais.

Destes novos pets, uma espécie em especial vem se destacando: o papagaio-verdadeiro *Amazona aestiva* (família Psittacidae). Sobre esta espécie, a literatura acumula uma quantidade razoável de informações. No que tange à hematologia deste psitacídeo, apesar de existir um razoável arsenal de dados, o estabelecimento de valores de referência aplicáveis a esta espécie, especialmente, nesta nova condição de criação artificial, ainda se faz necessária.

O papagaio-verdadeiro destaca-se no gênero como a espécie mais popular de papagaios, sendo considerado animal sociável, relativamente inteligente, capaz inclusive de imitar palavras humanas, adquirindo um notável vocabulário (SICK, 1997). Atualmente está classificado no anexo II do CITES (Convenção Internacional para o Tratado contra o Tráfico de Animais Silvestres), não sendo, portanto, espécie considerada criticamente ameaçada (IBAMA, 2005).

Esta espécie sempre foi uma presença comum nos lares do Brasil, especialmente nas pequenas cidades do interior, como animais de companhia, a despeito da legislação de fauna vigente, que desde 1967 (lei nº 5.197 de 3 de janeiro de 1967), proíbe a captura de animais para comércio. Entretanto, a partir de 1997, o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis – IBAMA - através das portarias 117 e 118-N de 15 de outubro de 1997, tornou lícita a criação de animais da fauna silvestre nacional para fins comerciais. Desde então, um número crescente de criadores vêm investindo em um novo ramo do agronegócio e deste

montante, boa parte têm se dedicado à criação do papagaio verdadeiro. Hoje existem vinte e seis criadouros comerciais de psittaciformes em plena atividade e um número bem superior a este em processo de implantação e regulamentação<sup>1</sup>, todos tendo o papagaio-verdadeiro como foco principal. Somente em um criatório, o Vale Verde Parque Ecológico (Betim – MG), nos anos de 2003 e 2004 foram produzidos e vendidos mais de quinhentos psittaciformes, dentre os quais aproximadamente 10% eram da espécie *Amazona aestiva*. Estima-se que novecentos papagaios-verdadeiros tenham sido comercializados legalmente no Brasil somente no ano de 2005<sup>2</sup>. Estas aves têm sido comercializadas a um preço médio de R\$ 1.500,00. Correndo em paralelo, existe toda uma indústria de suporte que vem se desenvolvendo em função desta nova atividade, tais como indústrias de alimentos especializados, gaiolas e viveiros, dentre outros. Somente uma indústria de alimento extrusado, a MegaZoo, vende em média 1.198 toneladas/ano de ração para papagaios<sup>3</sup>. Estes dados demonstram a crescente importância desta indústria.

Para que esta “nova indústria” alcance os resultados esperados, a hematologia cumpre papel fundamental, que vai além do estabelecimento de valores de referência. A medicina veterinária preventiva necessita dos conhecimentos acerca das hemoparasitoses, para que se possa traçar estratégias de prevenção / controle e mesmo tratamento. As hemoparasitoses acometem aves silvestres das mais diversas ordens e podem ser consideradas muito prevalentes em populações selvagens. Numa concepção global, a família Haemoproteidae figura como agente causal das parasitemias de

maior prevalência, seguida pelos Leucocytozoidae, os Plasmodiidae e os Tripanosomidae (ABREY, 1992; BALLOU, 1993; BENNETT *et al.*, 1974; BENNETT *et al.*, 1982; CLUBB, CRAMM, 1981; COOK, 1977; MERINO *et al.*, 1997; ROONEY *et al.*, 1998; WHITE *et al.*, 1978). Entretanto, esta distribuição de achados não é uniforme. No Brasil, os Plasmodiidae estão em segundo lugar, próximos aos Haemoproteidae (BENNETT e LOPES, 1980; CUBAS, 1992; SEBAIO, 2002).

A patogenia de uma infecção hemoparasitária pode ser bastante variável, desde expressões assintomáticas a casos de óbito pelo parasitismo (COOK, 1977; RICCHIE *et al.*, 1995). Esta susceptibilidade à doença pode estar relacionada a diversos fatores que influenciam o organismo da ave infectada, como: idade, estado nutricional, estado reprodutivo, migração ou infecções secundárias (MASSARD, 1979; MASSARD, 1982; SOARES *et al.*, 1995; MERINO, *et al.*, 2000; COOK, 1977; CUBAS, 1992). Trabalhos experimentais vêm demonstrando que estas parasitemias podem ter custos adicionais, comprometendo o sucesso reprodutivo da população (MASSARD, 1979; ATKINSON *et al.*, 2000). Existem poucos estudos sobre a patologia e imunologia das hemoparasitoses em aves silvestres, especialmente nos psitacídeos (ATKINSON *et al.*, 2000; MERINO *et al.*, 2000; CLUBB e CRAMM, 1981; ROONEY *et al.*, 1998) e não existem estudos avaliando o impacto das hemoparasitoses sobre criação comercial de Psittaciformes.

O presente estudo teve o objetivo de descrever valores e aspectos da hematologia de papagaios-verdadeiros – *Amazona aestiva* (família Psittacidae), bem como determinar a ocorrência de hemoparasitoses em um criatório comercial.

Os objetivos específicos incluíram:

<sup>1</sup> Fonte: obtido em [www.ibama.gov.br](http://www.ibama.gov.br), 2005

<sup>2</sup> Fonte: Associação Brasileira de Criadores de Animais Selvagens – ABRASE – 2006. Comunicação pessoal.

<sup>3</sup> Fonte: gerência comercial da MegaZoo, 2006 – comunicação pessoal.

- Análises qualitativas e quantitativas das séries eritrocítica, leucocitária e de trombócitos do sangue;
- Identificação de parasitismo por hemoparasitas e a influência do parasitismo sobre os parâmetros hematológicos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. SISTEMÁTICA, TAXONOMIA E BIOLOGIA GERAL:

O papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva* – Linnaeus – 1758), é uma ave da ordem Psittaciformes. Trata-se de um *taxon* (grupo) composto por duas famílias: Cacatuidae, que compreende 3 subfamílias e 6 gêneros, com 21 espécies descritas, limitada à região da Austrália e países circunvizinhos; e a família Psittacidae, muito maior e distribuída por todas as regiões tropicais e quase todas as regiões subtropicais do planeta, não ocorrendo apenas no continente europeu. Esta família é dividida em 2 subfamílias: Loriinae e Psittacinae, que possui 9 tribos e que ao todo, compreende 78 gêneros e 332 espécies (FORSHAW e COOPER, 1997; HOYO *et al.*, 1997; SICK, 1997). Dentre as espécies brasileiras destaca-se o gênero *Amazona*, que segundo Sick (1997) é composto por 28 espécies, muitas delas em processo de extinção (IBAMA, 2005; HOYO *et al.*, 1997). Ainda ocupam vastas áreas, especialmente no cerrado, cerradão, campo sujo, mata (borda), brejos e veredas da região central do Brasil, desde o sul da floresta equatorial amazônica ao sul do Brasil e norte da Argentina, Uruguai e Paraguai.

Os papagaios-verdadeiros são aves de pequeno a médio porte, com aproximadamente 35cm de comprimento que pesam cerca de 400 gramas (SICK,

1997). Exibem empenamento predominantemente verde, com a região do loro azul e máscara facial amarela, especialmente no entorno dos olhos. Possuem ainda marcação vermelha típica no terço anterior da face ventral nas retrizes. As penas do encontro das asas e as rêmiges secundárias também ostentam a cor vermelha. O bico, em forma semelhante a uma torquês adaptado para romper duras castanhas, sementes e coquinhos, é de cor predominantemente negra. Possuem membros posteriores fortes, com os dedos 1 e 4 em oposição aos dedos 2 e 3, apropriados ao hábito de escalar galhos de árvores. A literatura afirma que nesta espécie não existe um dimorfismo sexual evidente e confiável, embora criadores e observadores experientes afirmem que os machos e fêmeas possam ser distinguidos pela maior estrutura óssea, especialmente da cabeça e peso corporal. Animais criados em cativeiro parecem seguir esta hipótese, embora ainda não se tenha até o presente momento, validação estatística.

Os papagaios-verdadeiros são vistos em bandos e nestes, é possível sempre notar os casais pareados. São aves de hábitos monogâmicos e fiéis. Estão quase sempre em busca de alimentos, com preferência para sementes e coquinhos, mas comem também uma grande variedade de outros alimentos, principalmente de frutas, bagas, nozes, brotos e flores (HOYO *et al.*, 1997; SICK, 1997).

A estação de reprodução ocorre de setembro a fevereiro. Fazem ninhos em ocos de árvores e também em barrancos rochosos, onde fazem uma cavidade profunda. A fêmea põe de 2 a 4 ovos, que são chocados durante 24 a 29 dias. Na natureza são capazes de gerar somente 1 cria ao ano, com 1 a 3 filhotes/ano em média. Isto porque o período de criação da prole é muito longo, cerca de 4 a 5 meses, somente para que o filhote nascido ganhe capacidade de vôo. Os indivíduos jovens são bem semelhantes aos adultos, mas a cor

da plumagem pode ser menos intensa e a íris é castanha. Atingem a idade fértil entre 2 e 3 anos de idade, e a expectativa de vida desta espécie pode ultrapassar os 70 anos. (FORSHAW e COOPER, 1997; HOYO *et al.*, 1997; SICK, 1997).

## 2.2. SANGUE:

O sangue é definido como um tecido de matriz extracelular fluida (plasma) e elementos celulares livres, que transita pelo organismo através do sistema circulatório. É o grande responsável pela manutenção da homeostase, por ser o principal meio de transporte de substâncias pelo organismo: oxigênio, gás carbônico, nutrientes, metabólitos, hormônios e outros mediadores bioquímicos, resíduos metabólicos a serem eliminados, dentre outros. É também um dos principais responsáveis pela defesa do organismo, por transportar células de defesa, anticorpos e outros componentes que podem atuar de forma direta ou indireta neste processo (JAIN *et al.*, 2000; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

Uma simples amostra sanguínea analisada em laboratório pode expressar a situação de um indivíduo em determinado momento. O hemograma é um exame que expressa características mensuráveis e qualitativas dos diversos elementos celulares presentes neste sangue e em geral para a avaliação dos seguintes valores: o hematócrito (a proporção entre a massa celular e a fase fluida do sangue); a contagem global dos eritrócitos; o volume total de hemoglobina; a contagem global dos leucócitos e a contagem relativa dos diversos elementos desta série; a contagem global de plaquetas ou trombócitos. Destes resultados, por equações, obtém-se valores para o volume celular médio dos eritrócitos, do volume médio de hemoglobina em um eritrócito, a concentração média relativa de hemoglobina por célula, bem como da

contagem absoluta dos diversos elementos da série leucocitária.

Baseando-se somente nestes dados e utilizando-se como padrão de comparação os valores de referência quantitativos estabelecidos para determinada espécie, é possível reconhecer uma série de situações: anemias e policitemias; leucocitoses como respostas infecciosas, por exemplo, se pode suspeitar de bacteremias, quando existe um relativo acréscimo na contagem de neutrófilos (ou heterófilos em aves), viremias quando se observa aumento relativo de linfócitos, e assim por diante (JAIN *et al.*, 2000). Entretanto, uma etapa muito importante do hemograma, especialmente quando lidamos com animais silvestres, cujos valores de referência não são conhecidos ou são ainda pouco confiáveis, é a etapa de citologia dos elementos celulares à microscopia convencional. É com esta técnica que o patologista experiente percebe alterações celulares que podem evidenciar situações fisiopatológicas que a simples contagem celular não nos permitiria verificar. A visualização de um hemoparasita é uma destas situações fáceis de exemplificar. A caracterização de processos é outra importante função da microscopia citológica. Por exemplo: uma anemia pode ser considerada regenerativa se houver policromasia evidenciável; leucopenia generalizada associada a multilobulações e/ou picnose nuclear em neutrófilos pode indicar insuficiência de produção hematopoética, etc. (ANDERSON e STEPHENS, 1970; DUNCAN, *et al.* 1994; JAIN *et al.*, 2000; FERREIRA, *et al.* 1978; SANTOS, 1999)

Não é somente o conhecimento dos valores quantitativos de referência para uma espécie que devem interessar em um hemograma. As determinações das características qualitativas dos elementos celulares, observáveis à microscopia convencional, é parte fundamental do processo de diagnóstico.

### **2.2.1. Eritrócitos:**

Os eritrócitos das aves são células de grande tamanho (usualmente maiores que  $100\mu\text{m}^3$ ) que apresentam formato ovóide e são nucleadas. Em geral, o núcleo é também ovóide e alongado e está geralmente centralizado (BOUNOUS e STEDMAN, 2000; CAMPBELL, 1995; CARDOSO e TESSARI, 2003; HODGES, 1977; LUCAS e JAMROZ, 1961; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1983; STURKIE, 1976). O citoplasma apresenta coloração acidofílica, conseqüência da alta concentração de hemoglobina (BORSOOK *et al.*, 1962; CAMPBELL, 2000; STURKIE, 1976; WINTROBE, 1993).

Este grupo de células é produzido principalmente na medula óssea de aves adultas, mas pode ser gerado a partir de outros sítios hematopoéticos secundários como o fígado e o baço. Segundo Campbell (1995), desde as primeiras descrições dos pesquisadores Charipper e Dawson, (1928), tem sido demonstrado que eritrócitos maduros podem se multiplicar em circulação, por mitose e ou divisão amitótica, podendo eventualmente gerar eritrócitos anucleados, denominados eritroplástídeos. (CAMPBELL 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961; STURKIE, 1976).

A eritropoiese e a trombocitopoiese que ocorrem na medula óssea de aves se processa de maneira distinta destes processos nos mamíferos. Nestas, esta atividade ocorre no interior dos vasos sinusóides, enquanto que a granulopoiese ocorre no espaço extravascular fora destes sinus vasculares. Estudos com microscopia eletrônica revelam as paredes internas destes vasos, revestidas por camadas de células alongadas, sem membrana basal, contínua exceto onde granulócitos são vistos passando através do vaso. As células eritróides imaturas parecem aderir à parede interna do vaso e as células mais maduras se encontram nas camadas externas,

progressivamente mais próximas à luz (CAMPBELL, 1995; JAIN *et al.*, 2000).

Uma das grandes controvérsias entre os estudiosos em morfologia hematológica é a escolha da terminologia para a classificação celular. A hematopoiese, desde o desenvolvimento embrionário, apresenta gradientes contíguos de transformação, que podem ser organizados sob vários aspectos. Este fato faz com que cada escola ou mesmo cada pesquisador possa sugerir categorizações distintas, em acordo com um aspecto ou grupo de aspectos por este priorizado. A categorização dos tipos celulares também sofre influência da técnica empregada para a avaliação destes elementos, uma vez que os termos adotados serão influenciados pela aparência das células reveladas por esta técnica.

Enfatiza-se, desde Kracke & Garver em 1937 (citado em Lucas & Jamroz – 1961), a necessidade de uma padronização terminológica em função das técnicas de rotina. Desde então, várias propostas têm sido discutidas e hoje adotam-se terminologias comuns e amplamente aceitas na hematologia da espécie humana, que têm tido correspondência bastante semelhante na hematologia da maioria dos mamíferos domésticos. Entretanto, muitas das categorizações ou terminologias adotadas para estas espécies podem não encontrar total correspondência em alguns *taxa* de mamíferos e menos ainda em outras classes de vertebrados, como nas aves (CAMPBELL, 1995, JAIN *et al.*, 2000, LUCAS e JAMROZ, 1961).

O ponto pivotante da maior parte das controvérsias não está na caracterização do tipo celular, mas na categorização dos estágios de desenvolvimento destes tipos celulares vistos em esfregaço. As escolas de hematologia reconhecem e aceitam a teoria monofilética da hematopoiese para todas as espécies de vertebrados pelo qual postula-se que todas as linhagens e, conseqüentemente, todos os tipos celulares

derivam de célula-tronco comum (célula-tronco-pluripotencial). Mas a derivação em linhagens, tempo, forma de diferenciação entre os diversos estágios dentro de uma linhagem e o local onde esta diferenciação se processa podem ser bastante diferentes entre alguns *taxa*. Estes fatos resultam em características morfológicas singulares observáveis em esfregaços sanguíneos. Desta forma, não se faz possível estabelecer terminologia universal, comuns a todas as espécies, mesmo através de determinada técnica, embora analogias possam ser sugeridas (CAMPBELL, 1995; HODGES, 1977; JAIN *et al.*, 2000; LUCAS e JAMROZ, 1961, ROSSKLOPF e WOERPEL 1983, STURKIE, 1976).

É possível observar divergências entre a literatura médica e veterinária, ou mesmo na literatura veterinária, no que tange à escolha dos termos empregados para classificação de elementos celulares análogos, como por exemplo, os termos pró-eritroblasto e rubriblasto; eritroblasto e rubricito.

Independente das discussões acerca da terminologia empregada para a classificação dos elementos da linhagem eritróide, pode-se, até o momento, concluir, baseado na literatura (CAMPBELL, 1995; HODGES, 1977; JAIN *et al.*, 2000), que:

1. Quanto mais jovem a célula, maior é o núcleo desta, pois menos adensada está a cromatina, para permitir o máximo de acesso às informações nela contidas, por parte dos RNAs mensageiros. Os RNAs, por sua vez, controlarão as sínteses moleculares citoplasmáticas, principalmente da hemoglobina.

2. Na medida em que a célula segue rumo à plena maturidade, a demanda por informação nuclear diminui, tornando o núcleo gradativamente mais denso e, conseqüentemente, mais densamente corado (DNA menos acessível à transcrições).

3. O citoplasma de células jovens, pela intensa atividade de síntese, contém maior proporção de moléculas de RNA. Ácidos nucléicos são basofílicos, portanto quanto mais jovem a célula, mais azulado será o citoplasma.

4. À medida que a célula segue atingindo plena maturidade, há o acúmulo gradativo da hemoglobina (que é acidofílica), em oposição à diminuição da quantidade de RNAs, tornando o citoplasma gradativamente mais alaranjado (fase de policromatofilia).

5. Quanto mais jovem é a célula, menor é a resultante da relação citoplasma/núcleo, uma vez que a tendência do volume do núcleo é diminuir e o volume do citoplasma é aumentar com o envelhecimento celular.

Em aves, a observação de eritrócitos jovens em circulação é freqüente e, mesmo a visualização de formas imaturas (eritroblásticas) pode ser mais comum do que em mamíferos, provavelmente pelo fato da hematopoiese ocorrer já na luz dos vasos sinusóides. A simples visualização destes elementos não significa disfunção patológica (VAN DER HEYDEN, 1994). Podemos evidenciar aqui uma importante diferença entre a hematopoiese de mamíferos e aves. Em mamíferos, os eritrócitos só são normalmente encontrados em circulação, tipicamente maduros ou em estágio de quase completo amadurecimento (reticulócitos), já anucleados e com citosol repleto de hemoglobina. Em aves observa-se normalmente em circulação, células jovens com citoplasma policromático. Esta policromatofilia é resultante da produção e acúmulo gradativo de hemoglobina durante o amadurecimento, visto que são células nucleadas e portanto, capazes de atividade intracelular ativa, mesmo estando em circulação. Em mamíferos, a visualização de policromatofilia em eritrócitos circulantes é indicativa de anemia regenerativa (CAMPBELL 1995;

HODGES, 1977; JAIN *et al.*, 2000; LUCAS e JAMROZ, 1961; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1983; STURKIE, 1976).

Células imaturas, especialmente os eritrócitos policromáticos (i.e. metarubríctos) aparecem comumente em esfregaços de aves saudáveis. De forma significativamente mais rara, pró-eritroblastos (rubriblastos) e eritroblastos basofílicos (rubríctos), também podem ser identificados, sem necessariamente indicar alguma alteração patológica. Mas a presença destas células imaturas, na maioria das vezes, lança suspeita sobre alterações significativas como, por exemplo, uma marcante resposta hematopoética ou mesmo discrasia eritrocítica como uma eritroblastose. Intoxicação por metais pesados também pode causar o aumento nestas populações de células imaturas. Embora eritrócitos policromáticos possam ser observados normalmente em esfregaços sanguíneos de aves saudáveis, graus mais elevados de policromasia podem ser indicadores de resposta a processos anêmicos regenerativos ou também podem estar associados a períodos de ecdiase (CAMPBELL, 1995; HODGES, 1977; JAIN *et al.*, 2000; LUCAS e JAMROZ,

1961; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1983; STURKIE, 1976; VAN DER HEYDEN, 1994).

A categorização dos estágios de desenvolvimento da série eritrocítica, visualizada em esfregaços sanguíneos corados pelos métodos de Romanowisk, pode ser feita, segundo alguns pesquisadores (LUCAS e JAMROZ, 1961; JAIN *et al.*, 2000; CAMPBELL, 1995), pela observação e intersecção de alguns fatores, tais como: a evolução da transformação do gradiente de cor basofílico para acidofílico do citoplasma; a inversão gradativa da relação citoplasma/núcleo (de -/+ para +/-); a evolução da forma arredondada para a forma alongada (ovalada) da célula e do núcleo celular; o progressivo aumento da condensação da cromatina nuclear.

Em galinhas domésticas (*Gallus gallus*), o grau de policromasia pode ser avaliado pela contagem de eritrócitos policromáticos em um campo do esfregaço sanguíneo em monocamada, num aumento de 1000 vezes e categorizado conforme Lucas & Jamroz, (1961) e sumarizado na Tabela 1.

Tabela 1: Categorização dos graus de policromasia em esfregaço sanguíneo corado pelos métodos de Romanowisk.

Classificação	Caracterização	Interpretação
1+	2 a 10 células policromáticas por campo	Policromasia leve
2+	11 a 14 células policromáticas por campo	Policromasia discreta
3+	15 a 30 células policromáticas por campo.	Policromasia moderada
4+	Mais que 30 células policromáticas por campo.	Policromasia marcante

Fonte: Lucas & Jamroz, (1961)

Há que se ter especial atenção às situações de hipocromasia. Aves com anemias hipocrômicas podem apresentar células hipocrômicas, que podem ser inadvertidamente confundidas com células policromáticas (eritrócitos juvenis). Eritrócitos hipocromáticos apresentam características morfológicas de células maduras, exceto pela coloração do citoplasma. Deficiência de ferro pode resultar em hipocromasia, embora este tipo de deficiência seja raro em papagaios pela grande capacidade fisiológica de retenção do ferro que, em geral, os psittacídeos apresentam. Por outro lado, processos degenerativos de hemocromatose, assim como carência de vitaminas do complexo B, dentre outros (CAMPBELL, 1995; STURKIE, 1976; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1996), podem ser responsáveis por hipocromasia.

Em caso de dúvidas na distinção entre as células juvenis e células hipocrômicas, é possível revelar as células juvenis por colorações supravitais com o novo azul de Metileno, ou o azul de Cresil (CAMPBELL, 1995; HODGES, 1977; JAIN *et al.*, 2000; LUCAS e JAMROZ, 1961; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1983; STURKIE, 1976). Por estas técnicas, as células jovens, denominadas por alguns autores de reticulócitos, apresentam uma distinta banda de agregados reticulares no entorno do núcleo, correspondentes às organelas como os retículos endoplasmáticos rugosos ainda em fase final de atividade de síntese.

Células eritrocíticas de aves são muito plásticas e, portanto, relativamente deformáveis, criando artefatos que podem ser impropriamente confundidos com alterações patológicas da morfologia. Porém, algumas alterações celulares podem ser percebidas e podem ter significativa relevância (CAMPBELL, 1995; FUDGE,

1994; FUDGE, 1998; LUCAS e JAMROZ, 1961).

A anisocitose e a poiquilocitose são alterações na morfologia celular que, quando diagnosticadas, podem, seguindo-se o mesmo padrão, ser classificadas em escala de 1+, 2+, 3+, e 4+, representando contagens de 5 a 10, 11 a 20, 21 a 30 e mais que 30 células em tamanhos variáveis por campo do esfregaço em monocamada, num aumento de 1000X. (LUCAS e JAMROZ, 1961). Tais alterações, em até grau 1+ podem ser considerados um achado normal na maioria das aves. Entretanto, graus mais elevados podem indicar respostas às anemias regenerativas ou desordens eritrocitárias, raramente observadas em aves (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961; VAN DER HEYDEN, 1994).

Eritrócitos binucleados são eventualmente visualizados, mas, quando presentes em grande número, podem sugerir processos neoplásicos, infecções virais ou mesmo desordens genéticas (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961; VAN DER HEYDEN, 1994).

Eritrócitos anucleados, denominados eritroplastídeos são também achados eventualmente nos esfregaços sanguíneos de aves. Embora pouco se saiba sobre a importância da presença destes elementos em circulação, aceita-se que a presença ocasional de eritroplastídeos seja considerada de mínima importância. Acima disto, sugere-se problemas relacionados à eritrogênese (CAMPBELL, 1995; FUDGE, 1998; LUCAS e JAMROZ, 1961; VAN DER HEYDEN, 1994).

Ocasionalmente, observam-se núcleos eritrocíticos circundados por uma camada muito fina, quase inexistente, de citoplasma, e estes eritrócitos são denominados hematogônias (CAMPBELL, 1995; VAN DER HEYDEN, 1994). Sabe-se que tais elementos podem ser originados

por extrusão, dividindo o eritrócito típico em hematogônias e eritroplástídeos. A importância deste elemento é, no entanto, desconhecida.

Por outro lado, a visualização de eritrócitos maduros, pequenos e arredondados, denominados esferócitos, chama atenção e pode ser importante indicativo de desordens auto-imunes, como lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide, ou até, infecções crônicas (FRYE, 1991; VAN DER HEYDEN, 1994).

### **2.2.2. Trombócitos:**

Os trombócitos são tipos celulares presentes nos répteis (incluindo as aves), anfíbios e peixes (VEIGA *et al.*, 2000; FRYE, 1991; CAMPBELL, 1995; JAIN *et al.*, 2000). Exercem função análoga à das plaquetas dos mamíferos, participando do processo de hemostasia, mas podem exercer outras funções. Em Lepdosauria e Testudinata, foi demonstrado que este tipo celular tem capacidade fagocitária participando ativamente das defesas do organismo e capacidade de metaplasia eritrogênica, ou seja: processar a síntese e o acúmulo de hemoglobina, sofrendo modificações morfológicas e se transformando em uma célula muito semelhante em função e forma, a um eritrócito (FRYE, 1991; PELLIZON, 1996.). Em trombócitos de aves, também foi observada boa habilidade fagocitária (CHANG, HAMILTON, 1979).

Os trombócitos das aves são considerados células de grande importância na resposta imunológica inespecífica por serem células altamente fagocíticas (GRECCHI *et al.*, 1980; MORGULIS, 2002; CAMPBELL e DEIN, 1984; CHANG e HAMILTON, 1979; POWELL, 1987; SWEENEY e CARLSON, 1967). Tais células possuem capacidade de aderir e de fagocitar partículas estranhas. Tal capacidade fagocitária pode ser de 2 a 3 vezes mais rápida que a dos heterófilos e dos

monócitos, podendo, devido à maior população, fagocitar 1,7 vezes mais bactérias que estas células (CAMPBELL, 1995).

São células que, nas aves, não se originam de megacariócitos multinucleados como ocorre nos demais répteis. A origem dos trombócitos permanece incerta, mas postula-se que este tipo celular se origina diretamente de tromboplastos, células blásticas mononucleares derivadas das mesmas CFU-Meg (sigla, em inglês, de Unidades Formadoras de Colônias de linhagem megacariocíticas) que, em mamíferos, originam os megacarioblastos, os quais precedem os megacariócitos. Nas aves, estas CFU-Meg estariam presentes em meio a células de linhagem eritróide, aderidas à luz de vasos sinusóides, no interior da medula óssea (JAIN *et al.*, 2000). Considera-se, portanto, que os tromboplastos são células que derivam da linhagem de células mielóides unipotenciais, mas alguns pesquisadores apontam para uma relação genealógica mais estreita entre este tipo celular e a linhagem eritrocítica (CAMPBELL, 2000; LUCAS e JAMROZ, 1961).

Os trombócitos aviários medem 3 a 6,1 µm de largura, 6,1 a 11,5 µm de comprimento e são células ovais, menores que as hemácias. Possuem citoplasma incolor, de aparência reticulada, que muitas vezes contém vacuolizações ou grânulos basofílicos. O núcleo, redondo ou alongado, ocupa cerca de um terço do volume da célula (HODGES, 1977; CAMPBELL e DEIN, 1984; JANZARIK e MORGENSTERN, 1979; LUCAS e JAMROZ, 1961; JANZARIK, 1981; MAXWELL e TREJO, 1970; NIRMALAN *et al.*, 1972).

O estágio de desenvolvimento e maturação do trombócito circulante pode ser sutilmente percebido pela observação da densidade da pigmentação basofílica do citosol, com o tom mais intenso em células mais jovens, pela progressiva condensação

da cromatina e vacuolização do citoplasma, na medida em que a célula envelhece (BERTRAM, 1998, LUCAS e JAMROZ, 1961).

Sob estímulos diversos, trombócitos podem apresentar alterações de forma (LUCAS e JAMROZ, 1961; CAMPBELL, 1995). Trombócitos classificados como “reativos”, são geralmente maiores e arredondados, podendo ser confundidos com linfócitos.

### **2.2.3. Leucócitos:**

#### **2.2.3.1. Neutrófilo**

O neutrófilo, granulócito típico dos mamíferos, não é usualmente distinguido, nas contagens celulares de aves. Loewenthal (1930) e Lesbouyries (1941), citados por Lucas & Jamroz (1961), descreveram este leucócito como tipo celular distinto. Porém, as evidências apresentadas para suportar esta nova categorização não ganharam grande aceitação. Lucas & Jamroz (1961) postularam que estes elementos seriam na verdade, heterófilos degranulados. Esta discussão, porém, foi reacendida em 1973 por Frederic L. Frye, quando, pela utilização de coloração citoquímica, demonstrou em répteis a existência do neutrófilo por diferenciação do conteúdo enzimático do citoplasma. Mas mesmo em répteis, estas células não apresentam caracterização morfológica marcadamente distinta e, portanto, não podem ser distinguidas com precisão pelas técnicas de coloração de rotina. Estes elementos também parecem figurar em população pouco expressiva e a significância destas células em circulação ainda é desconhecida.

#### **2.2.3.2. Heterófilo**

O heterófilo é uma espécie leucocitária não encontrada em mamíferos, mas é o granulócito mais frequente em esfregaços

sanguíneos de aves e está relacionado primariamente a defesa do organismo frente às invasões bacterianas (ANDERSON e STEPHENS, 1970; CAMPBELL, 1995; ELSBACH, 1980; EVANS *et al.*, 1994; KOKOSHAROV, 1998) e nas respostas inflamatórias (HARMON, 1998). O heterófilo é um fagócito por excelência (MORGULIS, 2002). Atuam, após a endocitose, unindo fagossomas a lisossomas que contêm fosfatase ácida, beta-animo-glucoronidase, esterases não específicas, hidrolases e lactoferrina (EVANS *et al.*, 1994; HARMON, 1998; KOGUT *et al.*, 1998; HODGES, 1977; MORGULIS, 2002). Possuem, nas membranas citoplasmáticas, receptores Fc para receber anticorpos (opsoninas) (EGAMI, SASSO, 1991). Durante um processo inflamatório agudo, há atração e estimulação de heterófilos, provocando assim uma leucocitose (HARMON, 1998). Esses fagócitos são importantes mediadores da imunidade inata das aves, especialmente em jovens que ainda não desenvolveram a imunidade adquirida (HARMON, 1998; KOGUT *et al.*, 1998; MORGULIS, 2002). Aves não possuem macrófagos residentes no trato respiratório (QURESHI, 1998; MORGULIS, 2002) e os heterófilos representam a primeira linha de defesa celular neste sistema.

São células que medem cerca de 5,1 a 11,4 µm de diâmetro, o citoplasma é claro e repleto de grânulos citoplasmáticos em formato de bastonete que apresentam um tom eosinofílico pastel. Tais grânulos podem apresentar-se vacuolizados, hipocorados, ou com pequenos corpúsculos refrativos visualizáveis em cada grânulo. A significância desta diferenciação é ainda pouco esclarecida, mas evidências apontam para diferentes graus de dissolução em álcoois dos diferentes componentes presentes nestas granulações. Em geral, o núcleo do heterófilo é polimorfonuclear, apresentando de uma a cinco lobulações com densa cromatina. Estas células são

amebóides e têm motilidade (NIRMALAN *et al.* 1972; LUCAS e JAMROZ, 1961; CAMPBELL e DEIN, 1984; JAIN *et al.*, 2000.).

Em mamíferos, a segmentação do núcleo de neutrófilos em lobos é um indicativo do estágio de amadurecimento celular (JAIN *et al.*, 2000). Desde Lucas & Jamroz (1961), sugere-se a contabilização relativa das populações de granulócitos em função do número de lobulações visualizada. Tal estimativa pode oferecer parâmetro para avaliação e interpretação da tendência de comportamento da resposta celular (ANDERSON e STEPHENS, 1970; ELSBACH, 1980; EVANS *et al.*, 1994; KOKOSHAROV, 1998; QURESHI, 1998).

#### 2.2.3.3. Eosinófilo

Eosinófilos de aves são homólogos ao tipo celular de mamíferos que recebe o mesmo nome. Os eosinófilos de aves, assim como seu homólogo nos mamíferos, não atuam por fagocitose. A ação deste tipo celular está relacionada ao ataque de membrana plasmática da célula infectante por degranulação de enzimas digestivas. Atuam também por liberação de grânulos que contêm histaminase, uma enzima que degrada a histamina encontrada nos basófilos e mastócitos, moderando assim as reações de anafilaxia, especialmente na presença das IgG e IgE. Nas reações imunológicas frente a parasitemias, não se percebe eosinofilia, indicando que as aves não reagem da mesma forma que os mamíferos a este estímulo imunológico (ANDREASEN e LATIMER, 1990; KOKOSHAROV, 1998; POWELL, 1987; RIES *et al.* 1984; MORGULIS, 2002).

Os eosinófilos contêm citoplasma em tom levemente basofílico, repleto de grânulos esféricos, de tamanho uniforme e apresentam um tom acidofílico mais vivo. Os eosinófilos maduros, assim como nos heterófilos, são polimorfonucleares.

Apresentam densa cromatina, que em geral exibe coloração marcadamente mais intensa que a coloração nuclear dos heterófilos (CAMPBELL 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961; HODGES, 1977; ROSSKLOPF e WOERPEL 1993).

A baixa porcentagem de eosinófilos na contagem diferencial torna muito raro ou pouco provável, a visualização de eosinófilos imaturos no esfregaço sanguíneo (LUCAS e JAMROZ, 1961; CAMPBELL e DEIN, 1984).

#### 2.2.3.4. Basófilo

O basófilo de aves é também similar ao dos de mamíferos. Possui receptores Fc para IgE na membrana citoplasmática e seus grânulos contêm substâncias mediadoras do processo inflamatório, tais como, interleucinas, heparina, serotoninas, FAP (Fator de Ativação Plaquetária), bradicinina, prostaglandinas, etc. É em parte modulado pelo eosinófilo. Os basófilos aumentam em processos necróticos auxiliando a chegada dos macrófagos ao local da lesão, além de atuar nas etapas iniciais da inflamação e em reações de hipersensibilidade (MORGULIS, 2002). Em aves, está descrito que este elemento leucocitário também sofre aumento em situações de estresse severo, tensão severa ou prolongada e a processos tóxicos e septicêmicos (ANDERSON e STEPHENS, 1970; CAMPBELL 1995; KOKOSHAROV, 1998). Este contém citoplasma repleto de grânulos grandes e esféricos que apresentam, sob coloração de rotina, tom basofílico de intensidade marcante. O citosol geralmente não se cora ou apresenta uma cor residual levemente basofílica. Os grânulos deste tipo celular são parcialmente solúveis em álcoois, podendo eventualmente gerar, quando fixados por longos períodos, células com imagens negativas dos grânulos

(CAMPBELL 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961).

Nos basófilos maduros, os núcleos não são lobulados, possuem contorno arredondado ou irregular, raramente bilobulados. Geralmente observa-se cromatina paucicromática, embora menos adensada quando em comparação com os demais granulócitos e corada em tom mais avermelhado que os grânulos citoplasmáticos (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961; HODGES, 1977; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1993).

#### 2.2.3.5. Granulócitos Imaturos

Granulócitos imaturos em circulação são raros em aves sadias (CAMPBELL 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961). Promielócitos são caracterizados por núcleo irregular não lobulado com cromatina pouco adensada e citoplasma basofílico contendo grânulos arredondados de cor púrpura intensa. Mesomielócitos são distinguíveis dos promielócitos por apresentarem aproximadamente metade das granulações, já na coloração acidofílica definitiva, embora em formato ainda esférico e em tamanhos diversos. Uma maior visualização destes elementos pode ocorrer no sangue periférico em condições de desequilíbrio da homeostasia fisiológica (LUCAS e JAMROZ, 1961; FERREIRA NETO *et al.*, 1978; CAMPBELL e DEIN, 1984).

#### 2.2.3.6. Monócito

Monócitos possuem capacidade de fagocitar partículas estranhas. Quando migram da circulação para os tecidos são denominados macrófagos e estes são considerados a primeira linha de defesa contra agentes infecciosos fagocitando-os e atuando como apresentadores de antígenos aos linfócitos, sendo fundamentais na

regulação da resposta imunológica tanto natural quanto específica. Nas aves, participam da fase de inflamação aguda (JAIN *et al.*, 2000; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999; KLASING, 1998; QURESHI, 1998; MORGULIS, 2002).

São células grandes que apresentam citoplasma corado em tom azulado e um núcleo de cromatina pouco densa em formato de rim ou arredondada. Nesta classe, embora o monócito típico de aves seja semelhante ao mesmo tipo celular encontrado em mamíferos, este apresenta plasticidade e elevado grau de polimorfismo. Estas mesmas características também podem ser encontradas em linfócitos de aves. Este fato pode causar dificuldades de discriminação entre estes dois tipos celulares e, portanto, para correta classificação é necessário considerar vários pontos de diferenciação entre estes dois azurófilos (células cujo citoplasma se cora em tons de azul – levemente basofílicos) (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961; HODGES, 1977; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1993).

Apesar das semelhanças morfológicas, monócitos e linfócitos se diferenciam muito em função e origem. Monócitos são derivados de células de linhagem mielóide enquanto os linfócitos derivam de células de linhagem linfóide e ambos possuem as mesmas funções básicas que em mamíferos (MORGULIS, 2002).

Em geral, o tamanho médio destes monócitos é maior que o tamanho médio dos linfócitos. Tipicamente, o tamanho médio de um linfócito é algo em torno do tamanho do núcleo do monócito. Mas os mínimos e máximos entre estes tipos celulares podem se sobrepor (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961).

O núcleo geralmente é observado em posição excêntrica, mas não obedece a um padrão, podendo ter núcleos centralizados. O formato típico do núcleo do monócito apresenta uma depressão central em um dos

lados, conferindo a este núcleo o formato de um rim humano. Porém, muitos monócitos podem exibir núcleos arredondados ou alongados, sem depressão ou com dupla depressão conferindo um aspecto quase lobulado (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961).

Na média, a proporção citoplasma/núcleo do monócito é usualmente maior que no linfócito, mas esta diferença pode não ser muito grande. A posição excêntrica do núcleo do monócito pode criar a falsa impressão de abundância de citoplasma, mas se examinado mais atentamente, é possível notar que em média o conteúdo citoplasmático não é tão abundante e apresenta uma razão em torno de 1/1 (1/1,12 para frangos, segundo Lucas & Jamroz, 1961) entre núcleo e citoplasma.

O citoplasma tem, em geral, aspecto texturizado mais reticular (granular) que o linfócito e pode apresentar vacuolizações ou inclusões citoplasmáticas. São citadas na literatura (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961), inclusões granulares citoplasmáticas, que podem ser tipicamente observadas em monócitos: granações azurofílicas dispersas no citoplasma ou inclusões esféricas alaranjadas adjacentes à depressão no contorno nuclear.

A distinção de estágios imaturos de monócitos é um tanto imprecisa, pois este tipo celular apresenta poucos pontos estáveis de observação. Estes não têm, por exemplo, uma cromatina que evolui para estágios avançados de condensação (picnose), não formam grânulos bem característicos como o heterófilo e não acumulam hemoglobina como os eritrócitos. Além disto, os monócitos apresentam marcante polimorfismo. É sugerido que monócitos imaturos possam ser distinguidos por apresentar núcleo menos adensado, mais arredondado, menor proporção de citoplasma, citoplasma menos texturizado e com aspecto amebóide (LUCAS e JAMROZ, 1961). Monoblastos

são tão indistintos que não têm sido reconhecidos na medula óssea de aves pelas colorações de rotina. Provavelmente, isto se deve ao fato de que as células precursoras de monócitos e heterófilos são similares em estágios primários (CAMPBELL, 2000; QURESHI, 1998).

#### 2.2.3.7. Linfócitos

Os linfócitos são os leucócitos responsáveis pela imunidade específica – produção de anticorpos - e iniciam as reações de adaptação frente aos microorganismos, tornando os mecanismos de defesa mais eficientes com a idade. Assim como nos mamíferos, os linfócitos de aves podem ser divididos em dois grupos distintos: Linfócitos T e Linfócitos B, ambos apresentando subpopulações (L.T.auxiliar, L.T.Citotóxico, Plasmócito) de atuação específica e células de memória. Aves possuem a Bursa de Fabrício, órgão de diferenciação do linfócito B de onde deriva o nome (“B” de Bursa) e o timo, também presente nos mamíferos, donde advém o nome “T” (MORGULIS, 2002; POWELL, 1987).

Assim como os monócitos, os linfócitos das aves não apresentam a mesma regularidade morfológica observada nos equivalentes tipos celulares de mamíferos. Portanto, o termo linfócito típico deve ser utilizado com parcimônia, servindo este como referência, mas lembrando que frequentemente encontramos células que não se encaixam bem nos parâmetros descritos (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961).

O linfócito típico é de tamanho médio relativamente pequeno, sendo este usualmente o menor dos leucócitos e mesmo que os eritrócitos, sendo somente maior que os trombócitos. São células geralmente redondas e com contornos regulares, onde o núcleo geralmente é centralizado e também de formato redondo

e regular. O núcleo apresenta aspecto paucicromático, com grandes torrões de densa cromatina. O citoplasma forma um halo estreito ao redor do núcleo e apresenta uma textura hialina ou ligeiramente granular, corada em tons azulados (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961; HODGES, 1977; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1993).

A apresentação de um linfócito pode variar em vários aspectos. Linfócitos podem ser classificados quanto ao tamanho em dois grupos: os pequenos (típicos), aqueles cujo núcleo é mais adensado, portanto menor e com pouquíssimo conteúdo citoplasmático e os médios (CAMPBELL, 1995). Lucas & Jamroz (1961) propunham a classificação dos linfócitos em três grupos – pequenos, médios e grandes, entretanto existem razões para a contabilização dos grandes linfócitos junto com os médios ou, segundo alguns pesquisadores, mesmo a exclusão destes do rol dos linfócitos. Os assim-chamados grandes linfócitos são células que apresentam descrição básica semelhante à de linfócito típico exceto pelo grande tamanho, citoplasma ligeiramente mais abundante e mais intensamente corado e com a cromatina menos adensada. Em primeiro ponto, estes “grandes linfócitos” são muito raros em aves adultas normais, não alterando significativamente a contagem diferencial; segundo porque se levar em conta a teoria hematopoiética monofilética, é provável estarmos observando células imaturas (blastos) em fase indiferenciada deste ou mesmo de outros elementos de linhagem mieloblástica; e ainda é possível se tratar de um monócito atípico (CAMPBELL, 1995). Diante destes elementos, especialmente se encontrados em populações significativas, há que se ter especial atenção aos detalhes que podem permitir a diferenciação entre os diversos tipos celulares sugeridos.

Segundo Lucas & Jamroz (1961), a curva estatística do tamanho das células

linfocíticas em frangos segue os padrões de uma distribuição normal.

Nos linfócitos de aves podem ser vistas protruções protoplasmáticas, podendo por vezes conferir aspecto amebóide à célula. A relação núcleo/citoplasma é tipicamente menor que nos monócitos e apresenta uma razão em torno de 1/0,5 (1/0,47 para frangos, segundo Lucas & Jamroz, 1961), mas não é incomum a visualização de linfócitos com conteúdo citoplasmático bem maior. Algumas observações sugerem que o aumento das atipias citoplasmáticas merece especial atenção, pois pode estar relacionada a respostas antigênicas, frente a doenças. A coloração e o aspecto do citoplasma também é bastante variável. O citoplasma pode se corar suave ou intensamente e pode ter aspecto homogêneo ou granular. Poucas são as inclusões citoplasmáticas observadas. Destas, algumas granulações de cor magenta são especificamente relacionadas aos linfócitos (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961; HODGES, 1977; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1993).

O núcleo do linfócito pode ser observado tanto em posição excêntrica, quanto em posição central. Derivações da forma arredondada do núcleo também são comumente observadas. Em células cujo núcleo se encontra em posição excêntrica, é comum que a borda mais ao centro apresente contorno mais achatado. De maneira mais rara, esta mesma borda pode apresentar uma depressão mais ou menos profunda, podendo algumas vezes conferir ao núcleo, aspecto próximo ao formato de rim humano, comumente visualizado nos monócitos típicos. Algumas vezes, estas são características da célula derivada do linfócito B, o plasmócito. Este tipo celular é caracterizado pelo aspecto excêntrico do núcleo, que apresenta na borda central uma depressão. Aninhado nesta depressão, no citoplasma, percebe-se uma área hialina sensivelmente mais clara, de formato arredondado. O núcleo do plasmócito é

relativamente menos adensado que o núcleo de um linfócito típico e o citoplasma deste é também mais intensamente corado, quando comparado ao linfócito, exceto pelo halo claro, adjacente à depressão nuclear. Estas características de núcleo e citoplasma revelam atividade celular e no halo claro encontram-se o retículo endoplasmático e o complexo de Golgi, envolvidos na produção de imunoglobulinas (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961; HODGES, 1977; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1993).

A caracterização de formas imaturas de linfócitos em circulação é imprecisa não só pelo polimorfismo descrito, mas também pela própria fisiologia desta célula, que quando estimulada pode retornar às características típicas de células juvenis como cromatina pouco densa, de aspecto reticular, incremento citoplasmático, aumento na intensidade da coloração e aumento no tamanho da célula. Também, a maior parte da multiplicação e diferenciação das células blásticas em células diferenciadas da linhagem linfóide ocorre nas fases iniciais da vida do animal, nos órgãos linfóides primários, especialmente no Timo e na Bursa de Fabricius, embora nas aves estes permaneçam presentes ao longo de toda a vida (MORGULIS, 2002; POWELL, 1987).

#### 2.2.4. Hemoparasitas

Revisando a literatura, é possível verificar que, as hemoparasitoses aviárias caudas pelos Haemosporina, são de maior prevalência. Dentre os Haemosporina, a família Haemoproteidae vem sendo grupo de parasitas de maior prevalência, seguida pelos Leucocytozoidae e outros parasitas tais como os Plasmodiidae ou os Tripanossomatídae aviários (ABREY, 1992; BALLOU, 1993; BENNETT *et al.* 1974; BENNETT e LOPES, 1980;

BENNETT *et al.* 1982; CLUBB e CRAMM, 1981; COOK, 1977; CUBAS, 1992; KRETTLI, 1971; MERINO *et al.* 1997; ROONEY *et al.* 1998; SEBAIO, 2002; WHITE *et al.* 1978). É importante ressaltar que esta distribuição não é uniforme por todos os biótopos.

A prevalência de cada um dos grupos de parasitos vai depender das condições ambientais de cada região, que podem influenciar na densidade e distribuição dos hospedeiros, principalmente os insetos vetores (CLUBB e CRAMM, 1981; COOK, 1977). Os principais insetos relacionados com o ciclo destas doenças são os dípteros ornitofílicos. Destes destacam-se: a família Simuliidae, especialmente relacionados aos parasitas Leucocytozoidae; os Ceratopogonidae, em especial o gênero *Culicoides*, relacionados com os parasitas Haemoproteidae; a família Hippoboscidae, com destaque para a mosca *Pseudolynchia canariensis*, também relacionados aos parasitas Haemoproteidae; a família Culicidae, no qual os gêneros *Anopheles*, *Culex* e *Aedes* se destacam na transmissão dos parasitas Plasmodiidae. No ciclo dos Tripanossomatídae aviários, os insetos envolvidos são Reduviidae hematófagos pertencentes à ordem Hemiptera, especialmente à subfamília Triatominae (RESENDE *et al.*, 2001; GARNHAM, 1966).

Alguns autores (CONSOLI e LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1998) citam que a temperatura ambiente ótima para o desenvolvimento das larvas da maioria das espécies de culicídeos varia de 24 a 28°C, além de serem insetos dependentes de ambientes úmidos. Assim sendo, espera-se que em regiões de floresta tropical úmida, ambiente favorável ao desenvolvimento destes culicídeos, a prevalência de parasitas como os *Plasmodium spp.* seja mais elevada que em regiões semi-desérticas ou de tundra, onde sabemos que a ocorrência destes insetos-vetores é quase inexistente.

Considera-se que os vetores Ceratopogonidae dos parasitas Haemoproteidae sejam muito adaptáveis e, portanto amplamente distribuídos pelo mundo. Por isto, estes hemoparasitas estão largamente difundidos, embora haja exceções (CONSOLI e LOURENÇO-DE-OLIVEIRA 1998; COOK, 1977; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA e CASTRO, 1991; DESSER, BENNETT, 1996).

Nos estudos realizados no Brasil, abordando-se diversas espécies e de aves, registra-se uma prevalência maior dos parasitas Haemoproteidae. Os parasitas do gênero *Plasmodium*, surgem em segundo lugar e com uma prevalência significativamente menor quando comparado com países do hemisfério norte, encontram-se os Leucocytozoidae (BENNETT e LOPES, 1980; CUBAS, 1992; SEBAIO, 2002; KRETTLI, 1971; MASSARD e MASSARD, 1981).

De maneira pouco usual, as pesquisas têm revelado que a prevalência do parasitismo por Haemosporina é maior nas regiões temperadas do norte (regiões polares e sub-polares) que nas regiões tropicais úmidas. Bennett *et al.* (1974) demonstraram que 70 a 80% dos passeriformes do norte do Canadá tinham hemoparasitemia, em contraste com uma prevalência de cerca de 14% para os passeriformes da mata atlântica do sudeste brasileiro (SEBAIO, 2002).

Nos casos de parasitas sanguíneos de aves em geral, considera-se que a maioria dos parasitas surgiu e evoluiu nos trópicos e se dispersou para as regiões setentrionais, principalmente pela atuação das aves migratórias. Nos Haemosporina, porém, a maior prevalência, maior diversidade de espécies, assim como de insetos-vetores conhecidos, parece ocorrer em regiões subárticas. Especula-se, portanto, que neste caso, esta subordem parece ter surgido nestas regiões subtropicais e de lá, migrado para regiões mais ao sul, onde somente

aquelas espécies de parasitas que puderam encontrar vetores invertebrados adequados, foram capazes de se estabelecer em espécies indígenas não migratórias (DESSER e BENNETT, 1996).

Garvin & Greiner (2003) demonstraram algumas características importantes em um estudo acerca da epizootiologia do *Haemoproteus danilewskyi* em passeriformes em região subtropical. A prevalência do parasita em aves mais velhas é consideravelmente maior que em aves jovens. De maneira oposta, a parasitemia nos animais parasitados é maior nas aves mais jovens do que em mais velhas. É provável que esta observação se justifique pelo fato das aves mais velhas terem sido expostas por mais tempo ao inseto-vetor, aumentando assim, as chances de estarem infectadas. Aves jovens infectadas apresentariam densidades parasitárias mais altas, por estarem lidando com as primeiras parasitemias e assim sendo, o sistema imune destes animais seria menos efetivo que a das aves mais velhas. Quanto ao sexo, parece não existir diferença estatística relevante na prevalência do parasita entre machos e fêmeas. Apesar da prevalência das parasitoses ser constante ao longo dos anos, estes pesquisadores mostraram que em um mesmo ano, a parasitemia sofre grande influência sazonal, apresentando índices mais elevados no verão (cerca de 47% dos animais investigados) e menores no inverno (cerca de 3%).

Postula-se que esta variação sazonal nos índices de parasitemia esteja relacionada a fatores intrínsecos do ciclo reprodutivo destas aves. Nestes períodos de maior prevalência, geralmente as aves se encontram em transformação nupcial, acasalamento ou se dedicando aos cuidados com a prole. Estas mudanças hormonais e o estresse associado à reprodução podem reduzir a eficiência do sistema imune destas aves, permitindo um aumento na parasitemia, tornando-a detectável. Além disto, tal flutuação sazonal na parasitemia

parece refletir a sazonalidade que ocorre também com os insetos vetores nestas regiões, onde durante o inverno, os insetos quase desaparecem, enquanto que no verão, a ocorrência dos insetos-vetores aumenta e aumenta as chances de transmissão do parasita. Bennett *et al.* (1974) demonstraram este fenômeno em populações de aves do norte do Canadá, onde a prevalência das parasitemias flutua de 41% a 9%, conforme a época do ano (verão ou inverno). Revisando a literatura, estes padrões parecem se repetir de uma maneira geral para todos os haemosporina. (GARNHAM, 1966; DESSER e BENNETT, 1996; GARVIN e GREINER, 2003; FEDYNICH e RHODES 1995; MERINO *et al.* 1997).

Alterações do ambiente parecem exercer grandes influências sobre a prevalência de hemoparasitas. Na Europa do início do século 20, a prevalência destas hemoparasitoses era de cerca de 60% sobre a população de passeriformes, enquanto que no final do século, não ultrapassou os 10% da população de pássaros (BENNETT *et al.*, 1982). Supõe-se que este fato seja um reflexo da urbanização, com o crescimento das cidades sobre o ecossistema daquelas regiões, reduzindo a biomassa tanto dos parasitas, quanto dos hospedeiros abaixo de um ponto crítico onde a alta prevalência poderia acontecer.

Pelo que é possível perceber na literatura, ainda existem muitas incertezas a respeito das hemoparasitoses aviárias, causadas por Haemosporina. Os conhecimentos acerca da biologia deste grupo, ainda podem ser

considerados incipientes. A própria sistematização do grupo ainda é incerta e os parasitas conhecidos são pouco estudados (ATKINSON, 1986; BENNETT e PEIRCE, 1988; DESSER e BENNETT, 1996; GARNHAM, 1966; GARNHAM e DUGAN, 1986; HUS e CAMPBELL; LEVINE, 1973; LEVINE, 1988).

Apesar da quantidade considerável de estudos, a prevalência geral destas parasitemias ainda não foi levantada. Os estudos em países do hemisfério norte estão mais avançados que no hemisfério sul. No Brasil, estes levantamentos são escassos. Existem alguns estudos sobre a avifauna selvagem da mata atlântica, em populações de aves urbanas como a pomba-doméstica (*Columba livia domestica*) e alguns relatos isolados de caso (RESENDE *et al.*, 2001). Não existe no Brasil, estudo amplo estimando a prevalência das hemoparasitemias por biótopos e biomas e, portanto, ainda não é possível tecer um perfil do status hemoparasitário nas aves brasileiras.

#### **2.2.5. Valores hematológicos de referência de *A. aestiva*:**

Nestas últimas duas décadas, importantes trabalhos de pesquisa vem sendo realizados no Brasil e em outros países, na busca pelo conhecimento hematológico do papagaio-verdadeiro. Dentre os autores brasileiros, destaca-se o trabalho de Santos (1999), que propõe a seguinte tabela de valores de referência para a espécie:

Tabela 2: Valores de referência para hemograma de *Amazona aestiva* em cativeiro.

Parâmetro/unidade	Limites				n
	Média aritmética	Desvio Padrão	inferior	superior	
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	1,74	0,49	1,25	2,23	10
Hematócrito %	44,50	3,91	40	48	10
Hemoglobina g/dL	13,03	1,34	11,69	14,37	10
VCM μ <sup>3</sup>	276,73	69,77	206	346	10
HCM μμg	84,58	24,17	60	108	10
CHCM %	29,69	2,78	26	32	10
Leu. Tot. (X 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	8,75	2,75	6,0	11,5	10
Heterófilos %	48,00	16,20	31	64	10
Heterófilos /mm <sup>3</sup>	3805,00	2201,16	1603	6006	10
Eosinófilos %	0	0,63	0	1	10
Eosinófilos /mm <sup>3</sup>	0	31,62	0	31	10
Basófilos %	0	0,84	0	1	10
Basófilos /mm <sup>3</sup>	0	79,47	0	79	10
Linfócitos %	50,00	16,33	33	66	10
Linfócitos /mm <sup>3</sup>	4687,50	2158,47	2529	6845	10
Monócitos %	0,50	0,94	0	1	10
Monócitos /mm <sup>3</sup>	32,50	116,36	0	148	10

n = total de amostras, animais adultos.

Obs: Animais em cativeiro do Criadouro de Animais Silvestres da Itaipu Binacional – Foz do Iguaçu – PR – Brasil.

Fonte: Extraído integralmente de Santos, L. C.; Laboratório ambiental – Cascavel EDUNIOESTE, 1999 - pág. 240

Parte da literatura propõe valores de referência para um grupo genérico de psitacídeos, ou mesmo para grupos

familiares, interpolando gêneros diversos, como se observa na Tabela 3.

Tabela 3: Valores de referência para hemograma de *Psittaciformes*.

Parâmetro	Varição Normal
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	2.5–4.5
Hematócrito %	35–55%
Policromasia	Discreta
Anisocistose	Discreta
Leucócitos Totais / mm <sup>3</sup>	5000–15000
Heterófilos	40–75%
Linfócitos	20–50%
Basófilos	0–5%
Eosinófilos	0–2%
Monócitos	0–3%
Trombócitos	presentes

Fonte: Extraído integralmente de McDonald, 1996 – disponível on-line em <http://www.oldworldaviaries.com>. – Janeiro de 2006

Grande parte da literatura sobre hematologia de *A. aestiva* são resumos em Anais de eventos e, em geral, são relatos de casos, descrições isoladas de animais levados à avaliação veterinária, animais apreendidos por órgãos ambientais, dentre outros.

O banco de dados I.S.I.S. – *International Specimen Information System* ([www.isis.org](http://www.isis.org)), uma entidade sediada no *Minnesota*

*Zoological Garden* e gerenciada pela *American Zoo and Aquarium Association* (AZA) e *American Association of Zoo Veterinarians* (AAZV), atua desde 1973 compilando e reunindo informações de diversos pesquisadores das mais diversas origens e de instituições zoológicas do mundo. Desta ação resulta a disponibilização de informações na forma de parâmetros fisiológicos de referência.

Tabela 4: Valores Fisiológicos de referência: *Amazona aestiva*.

Variável	Unidade	Média	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo	Tamanho amostral <sup>a</sup>	Nº de animais <sup>b</sup>
Leucócitos totais	*10 <sup>3</sup> /µl	8.838	3.423	3.800	15.30	21	17
Hemácias	*10 <sup>6</sup> /µl	2.95	0.65	1.96	4.05	10	8
Hemoglobina	g/dl	14.9	2.9	9.1	17.7	7	7
Hematócrito	%	45.7	3.1	41.0	52.5	29	21
VCM	fL	160.8	26.2	129.2	209.2	10	8
HCM	pg/cél.	55.0	5.3	47.7	60.0	4	4
CHCM	g/dl	31.9	5.7	20.7	36.5	6	6
Trombócitos	*10 <sup>3</sup> /µl	216	0	216	216	1	1
Heterófilos	*10 <sup>3</sup> /µl	4.636	2.462	1.400	9.500	21	17
Linfócitos	*10 <sup>3</sup> /µl	3.595	1.805	1.070	8.880	21	17
Monócitos	*10 <sup>3</sup> /µl	0.462	0.331	0.114	1.378	17	15
Eosinófilos	*10 <sup>3</sup> /µl	0.356	0.541	0.034	1.440	8	8
Basófilos	*10 <sup>3</sup> /µl	0.262	0.131	0.129	0.525	8	8

\*Ambos os sexos combinados.

\*Todas as idades combinadas;

\*As amostras resultam de submissões de 14 instituições integrantes.

<sup>a</sup> : Número de amostras usadas para calcular o valor de referência.

<sup>b</sup> : Número de indivíduos diferentes que contribuíram para formar o valor de referência.

Fonte: Extraído integralmente de I.S.I.S., 2002 - [www.isis.org](http://www.isis.org)

Vários autores (CAMPBELL, 1995; FUDGE, 1998; LUCAS e JAMROZ, 1961) evidenciam a necessidade de uma citologia diferencial, criando-se categorizações mesmo dentro de linhagens celulares específicas. Tais categorizações permitem avaliar a dinâmica funcional daquela linhagem celular e assim compreender o momento hematológico ou imunológico vivido por aquele espécime. Podem-se tomar como exemplos, a avaliação dos graus de policromasia e a diferenciação entre linfócitos pequenos e médios, no qual

a presença maior de linfócitos médios pode indicar maior atividade linfocítica; As propostas de categorização dos diversos graus da dinâmica eritrocítica (graus de policromasia) baseados principalmente em hematologia da galinha-doméstica (*Gallus gallus domesticus*) permitem avaliar a resposta hemodinâmica frente a anemias. Para *A. aestiva* nenhuma tabela quantitativa detalhada foi proposta. Embora existam algumas informações sobre perfis hematológicos de papagaios-verdadeiros, análises estatísticas comparativas entre grupos etários, sexuais e sob condições

ambientais diversas, como por exemplo, o cativoiro ou sob regimes alimentares distintos, inexistem para esta espécie.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. LOCAL DO ESTUDO**

Os papagaios-verdadeiros utilizados neste estudo pertenciam ao criatório do Vale Verde Parque Ecológico (VVPE) que está localizado próximo ao Km 39 da rodovia MG 50, no bairro de Vianópolis, região rural do município de Betim – MG. O local é uma fazenda que hoje abriga uma estrutura de turismo que inclui áreas de lazer infantil, um restaurante, o complexo de produção de cachaça, um parque zoológico especializado em aves com cerca de 1.000 animais das mais variadas ordens e um criatório de Psittaciformes, este situado fora da área de visitação pública. O VVPE possui uma área de aproximadamente 20 ha. cercado por canaviais, uma reserva florestal e outros sítios em suas fronteiras. O VVPE conta ainda com duas lagoas com cerca de 12.000 m<sup>2</sup> de lâmina d'água. A região possui características ambientais típicas do cerrado mineiro.

O criatório comercial do VVPE está localizado no terço final da propriedade, em uma área de cerca de 10.000 m<sup>2</sup>, murada e com acesso restrito aos funcionários do setor. No ano de 2004, o plantel de reprodutores compreendia cerca de 200 casais de aves silvestres nacionais, abrangendo 22 espécies da família Psittacidae. Destes, 58 (cinquenta e oito) papagaios-verdadeiros foram clinicamente avaliados e tiveram amostras sanguíneas coletadas para análise.

#### **3.2. AMOSTRA ESTUDADA**

Fizeram parte do estudo 58 papagaios-verdadeiros com as seguintes características:

- Todas eram identificadas por colocação de anilhas metálicas numeradas nas patas.
- Todas tinham entre 4 e 8 anos de idade, consideradas jovens adultas (acima da idade puberal e abaixo de 50% da expectativa de vida para a espécie – 3 a 30 anos de vida);
- Todas tinham mais de três anos de estabelecimento no plantel;
- Eram 34 machos e 24 fêmeas, a maioria acasalados.
- Cada casal ou dupla era mantido em viveiros separados.
- Algumas destas aves tinham histórico reprodutivo;
- Todos estavam saudáveis, sem sinais de doença clinicamente detectável.
- As condições de manejo eram iguais para todos os animais e se mantiveram basicamente inalteradas por pelo menos dois anos antes do estudo.
- Todas as aves do estudo possuíam controle sanitário e histórico de saúde conhecido a mais que três anos. Três meses antes deste estudo houve pesquisa para detecção de endoparasitos nas fezes, e o resultado foi negativo.

#### **3.3. INSTALAÇÕES, MANEJO E CONTROLE SANITÁRIO DAS AVES.**

Todos os casais ou duplas, estavam alojados em viveiros do tipo gaiola-suspensa. São viveiros de tela metálica soldada, de formato retangular (2,5 m. de comprimento x 1,5 m de altura x 1,5 m de largura) suspensos sobre estrutura metálica a 1,0 m do chão. Em um dos lados, na face frontal do viveiro, havia uma estrutura para a alimentação das aves, comportando três vasilhames – ração, água e frutas – e uma pequena porta para acesso ao interior do viveiro. Do outro lado, na face de fundo, pelo lado externo, havia anexado um ninho - uma caixa de madeira com aproximadamente 70 cm de altura por 40 cm de largura e 40 cm de profundidade. No alto deste ninho existia uma abertura circular de aproximadamente oito centímetros de diâmetro que permitia o acesso das aves, através da tela, que possuía uma abertura correspondente. O ninho era forrado com serragem de madeira branca como cama, possuía ainda, uma portinhola em sua face externa, para que os tratadores pudessem fazer inspeções. No interior, o viveiro possuía dois poleiros, estrategicamente próximos às telas de frente e de fundo, para permitir espaço de vôo entre os poleiros. Os viveiros tinham ainda cobertura telhada em ambas as extremidades, conferindo sombra e proteção contra chuva em pelo menos 50% da área do recinto.

O manejo era feito duas vezes ao dia. Nesta rotina, água e comida eram renovados, bem como eram executadas rotinas de higiene. Os vasilhames de alimento e água eram trocados a cada manejo e, no setor de serviços, estes vasilhames eram lavados e desinfetados (hipoclorito de sódio a 1.000 ppm de cloro livre) diariamente. Como os viveiros eram do tipo gaiola-suspensa, as aves não tinham contato com o chão, portanto, não conseguiam ter acesso a alimentos caídos, a sujeiras e às próprias fezes, o que diminuía grandemente os riscos sanitários. As telas metálicas dos viveiros

eram higienizadas a cada dois dias por meio de água pressurizada. O chão, onde as fezes e restos alimentares caíam, era lavado também a cada dois dias.

Os animais recebiam como base da alimentação, alimento extrusado, industrializado da marca MegaZoo tipo “AM” ou “AR”, indicadas para períodos de manutenção ou reprodução respectivamente. Esta ração é balanceada especificamente para as necessidades nutricionais dos papagaios-verdadeiros. Nenhum fármaco era adicionado na dieta das aves. Além desta adição, também eram oferecidos legumes, frutas, verduras e sementes, numa proporção de cerca de 10% a 15% do consumo diário de comida. Esses alimentos cumprem papel muito importante para as aves, atuando como peças de entretenimento. A água era oferecida *ad libitum*.

As aves do VVPE eram inspecionadas diariamente pelo médico-veterinário que fazia, também, a verificação do manejo do plantel. O ambiente das aves (viveiros, ninhos e adjacências) também era inspecionado diariamente. Durante os meses de maio e junho, todas as aves eram submetidas à exames clínicos e parasitários: amostras de fezes eram submetidas a exames parasitológicos de sedimentação e flutuação e penas eram submetidas a exames de microscopia direta para pesquisa de ectoparasitas. Neste período, os ninhos e poleiros eram retirados para limpeza e desinfecção (hipoclorito de sódio a 1.000 ppm) ou substituídos se necessário. A terapêutica antiparasitária, quando necessária, era direcionada somente aos indivíduos parasitados e a escolha do fármaco era feita em função do achado laboratorial, seguindo-se as recomendações de literatura. Não se fazia medicação antimicrobiana preventiva. As aves do VVPE não eram submetidas e programas de vacinação. Aves adoentadas eram imediatamente afastadas do plantel e encaminhadas para o ambulatório

veterinário do VVPE para avaliação clínica e laboratorial adequada e permanência em ambiente adequado para tratamento, distante do local da criação.

#### 3.4. PERÍODO DE COLETA DO MATERIAL

A coleta de material foi realizada no período de dezembro de 2004 a janeiro de 2005 (momento de pico da atividade reprodutiva das aves).

#### 3.5. AVALIAÇÃO CLÍNICA E COLETA DE SANGUE

Dois métodos de contenção foram empregados: contenção física e contenção química. Os animais foram retirados de seus viveiros por intermédio de um puçá e contidos fisicamente, para logo em seguida serem contidos quimicamente pelo uso de éter dietílico através de uma máscara facial, conforme técnicas descritas na literatura e rotineiramente empregadas no VVPE (RUPLEY, 1997; RICCHIE *et al.*, 1995; MASSONE, 1988).

No método de contenção física, o operador que auxiliava o pesquisador segurava a ave posicionando uma mão por traz da base do pescoço e cabeça, e com a outra mão, estendia-se os membros inferiores posicionando-os paralelamente à cauda e ao mesmo tempo segurava-se as asas flertidas, pelas pontas das rêmiges primárias.

Para se executar a contenção química, era utilizado um frasco de vidro cilíndrico de 300ml contendo uma gaze embebida em éter dietílico. Imediatamente após a colocação do produto dentro do frasco, a

cabeça da ave era introduzida por cerca de 15 segundos, tempo suficiente para uma rápida indução anestésica, caracterizada pelo relaxamento muscular e perda de consciência. Era mantida criteriosa atenção nos parâmetros respiratórios e cardíacos da ave, por observação dos movimentos respiratórios e ausculta cardiopulmonar. Uma vez anestesiado, a cabeça era retirada do frasco e procedia-se a coleta sanguínea e a avaliação clínica.

Para a colheita de amostra sanguínea, dois métodos eram utilizados: a venipunção da veia braquial; e a colheita por gotejamento, ao se cortar o plexo venoso e capilar da polpa de uma das unhas do membro posterior, diretamente sobre lâmina para confecção do esfregaço sanguíneo.

Em seguida, as aves eram pesadas e passavam por um cuidadoso exame clínico padrão onde se avaliava: o escore corporal, segundo os parâmetros definidos na Tabela 5; estado geral, que compreende descrição da aparência externa da ave pelo aspecto das possíveis alterações clínicas; aspecto de mucosas e cavidades naturais exploráveis; ausculta cardiopulmonar; aspecto das excreções (fezes e urina). Todas as aves eram avaliadas para presença de ectoparasitas, estendendo-se e examinando-se cuidadosamente ambas as asas em suas faces interna e externa e também o dorso, ventre e cabeça, tomando sempre o cuidado de levantar e separar penas e examinar a pele abaixo. O comportamento cotidiano do animal também era avaliado. Para tanto, observavam-se respostas e aspectos sensoriais, proprioceptores e motores frente às interações do ambiente, a estímulos produzidos por outros animais, por água e comida e também pelo homem. As alterações comportamentais eram classificadas por: comportamentos de origem patogênica (inquietação, tensão, parestias, apatia, anorexia, paralisias, inconsciência, dispnéia, tosse, claudicação, arquejar do flanco, incoordenações, etc.) e comportamentos estereotipados de origem

psicogênica (agressividade exacerbada, obsessivo-compulsivos, etc).  
 automutilações, fobias, transtornos

Tabela 5: Categorização do escore corporal do papagaio-verdadeiro:

Classificação	Descrição
Ruim	Perda de massa muscular. Crista da cartilagem externa aparente. Processos vertebrais aparentes. Escápula e saliências ósseas aparentes. Afundamento abdominal.
Regular	Poucas reservas de gordura aparente, porém apresentando superfície corporal regularmente lisa. Musculatura no mesmo plano que a crista da cartilagem externa. Abdômen nivelado com a cartilagem externa, portanto sem afundamento abdominal.
Ótimo	Presença de discreta reserva de gordura subcutânea, especialmente na base cauda, não se visualiza saliência óssea no tronco. Contornos musculares plenos e exuberantes. Ave apresenta discreto acúmulo de gordura celomática, tornando a porção abdominal ligeiramente mais saliente que a cartilagem externa.
Obeso	Abundante reserva subcutânea de gordura, especialmente na base da cauda, causando alargamento desta. Evidente acúmulo de gordura celomática, caracterizado por saliência abdominal e pela cor amarelada, perceptível sob a massa muscular abdominal.

### 3.6. EXAMES LABORATORIAIS:

Duas amostras sanguíneas foram coletadas de forma distinta. A primeira, amostra de sangue colhido a partir do corte superficial de uma unha da ave, se destinou à confecção imediata de dois esfregaços sanguíneos, corados com May Grünwald–Giemsa e/ou Panótico para a pesquisa direta de hemoparasitas e determinação da parasitemia. A segunda amostra, coletada por venipunção com anticoagulante para exames hematológicos, a saber:

- Determinação do hematócrito;
- Contagem global dos eritrócitos;
- Volume total e hemoglobina;
- Contagem global dos leucócitos;
- Contagem relativa dos elementos da série leucocitária (linfócitos, monócitos, heterófilos, eosinófilos e basófilos);
- Contagem global de trombócitos.
- Foram calculados ainda:
  - Volume celular médio dos eritrócitos (VCM);
  - Volume médio de hemoglobina em um eritrócito (HCM);

- Concentração de hemoglobina globular média (CHCM);
- Os valores de contagem absoluta dos elementos da série leucocitária;
- Citologia dos elementos celulares à microscopia convencional.

Para coleta das amostras, foram utilizados kits de coleta comerciais para pequenos volumes: Sarstedt -Monovette Heparina Lítica ou EDTA 1,2 mL com agulha Monovette 0,7 x 25mm, e Vacuette EDTA 1,0 mL com agulha de 0,4 X 13 mm. As amostras colhidas eram imediatamente processadas.

Os esfregaços sanguíneos foram examinados sob microscopia óptica convencional (imersão: 1000x) . Para fins de contagem e classificação descritas nesta dissertação, foi estimado e adotado que os campos de visualização microscópica teriam em média aproximadamente de 150 (cento e cinquenta) células. Todas as lâminas de hematologia foram examinadas duas vezes, obtendo-se uma média a partir dos resultados.

Para pesquisa hemoparasitária direta sobre cada esfregaço sanguíneo, adotou-se como padrão a observação de 200 (duzentos) campos (SOUZA *et al.*, 1999; SEBAIO, 2002). Foram pesquisadas duas lâminas por ave.

A categorização dos estágios de desenvolvimento da série eritrocítica, visualizada em esfregaços sanguíneos corados pelos métodos de Romanowisk, pode ser feita com base na observação e interseção dos seguintes fatores: a evolução da transformação do gradiente de cor basofílico para acidofílico do citoplasma; a inversão gradativa da relação

citoplasma/núcleo (de -/+ para +/-); a evolução da forma arredondada para a forma alongada (ovalada) da célula e do núcleo celular; o progressivo aumento da condensação da cromatina nuclear (CAMPBELL, 1995; LUCAS e JAMROZ, 1961; VAN DER HEYDEN, 1994; HODGES, 1977; JAIN *et al.*, 2000; ROSSKLOPF e WOERPEL, 1983; STURKIE, 1976).

A Tabela 6 apresenta a categorização da linhagem eritrocítica de aves propostas por Lucas & Jamroz (1961) e atualizada por Campbell (1995).

Tabela 6: Categorização dos elementos da linhagem eritrocítica em esfregaço sanguíneo corado pelos métodos de Romanowisk.

<b>Categoria</b>	<b>Coloração apresentada</b>	<b>Relação citoplasma/núcleo</b>	<b>Perfil celular e nuclear</b>	<b>Aspecto nuclear</b>
Pró-eritroblasto (Rubriblasto)	Profundamente basofílico.	Citoplasma muito escasso, formando fina borda ao redor do núcleo.	Ambos em formato redondo.	Núcleo largo e pouco denso, com um ou dois nucléolos visíveis.
Eritroblasto basofílico (Rubrícito)	Profundamente basofílico.	Citoplasma escasso, formando uma fina borda ao redor do núcleo.	Ambos em formato redondo.	Núcleo ainda largo e pouco denso, porém nucléolos não são visíveis.
Eritroblasto policromático (Metarubrícito)	A tonalidade é basofílica, mas se dilui sensivelmente.	O volume citoplasmático aumenta sensivelmente para uma razão próxima de 1/2	A célula, sensivelmente arredondada, é mais longa, embora o núcleo permaneça redondo.	A cromatina nuclear em processo de condensação.
Eritrócito policromático jovem	O citoplasma predominantemente basofílico, apresenta áreas acidofílicas, caracterizando o início da policromatofilia do citoplasma.	O volume citoplasmático continua aumentando para uma razão próxima de 1/1	Célula mostra formato levemente ovalado e o núcleo é alongado.	Cromatina nuclear discretamente mais condensada.
Eritrócito policromático em estágio avançado	O conteúdo policromatofílico do citoplasma, já não exhibe predomínio da basofilia: tende para um tom cinza (neutro) com áreas eosinofílicas.	O volume citoplasmático ultrapassa a razão de 1/1	A célula e o núcleo já apresentam formato ovalado	Núcleo têm cromatina condensada, semelhantes a escamas, podendo ser denominado “leptocromático”.
Eritrócito típico maduro	O citoplasma apresenta plena tonalidade acidofílica, consequência da alta concentração de hemoglobina	O volume citoplasmático ultrapassa a razão de 2/1	A célula apresenta formato ovalado, mas o núcleo é bem mais alongado.	Núcleo evidenciando grosseiros grânulos de densa cromatina, já denominado “paquicromático”, com bordas razoavelmente regulares ou ligeiramente irregulares.
Eritrócito senil	O citoplasma apresenta plena tonalidade acidofílica. Algumas vezes pode apresentar tonalidade diluída	O volume citoplasmático ultrapassa a razão de 2/1	A célula e o núcleo apresentam formato ovalado	Núcleo apresenta perda de detalhes e progressiva condensação nuclear em grandes torrões aumento da irregularidade das bordas e finalmente evolui para a picnose.

Fonte: Campbell (1995).

Duas alterações de morfologia celular foram especialmente avaliadas: a anisocitose, e a poiquilocitose. Estas alterações morfológicas foram classificadas

de acordo com o padrão proposto por Lucas & Jamroz (1961) e adaptado por Campbell (1995).

Tabela 7: Classificação do grau de anisocitose ou poiquilocitose.

Grau	Contagem de células anormais
1	Até 10% de células anisocíticas ou poiquilocíticas.
2	De 11 a 20% de células anisocíticas ou poiquilocíticas.
3	De 21 a 30% de células anisocíticas ou poiquilocíticas.
4	Mais que 31% células anisocíticas ou poiquilocíticas.

Fonte: Lucas & Jamroz (1961) e adaptado por Campbell (1995).

### 3.7. MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Para as análises estatísticas dos resultados obtidos, foram utilizados os programas Excel® e Minitab®. As variáveis estudadas foram submetidas ao teste de normalidade de Ryan-Joiner, apresentando distribuição normal. Das amostras, foram feitos os cálculos de descrição estatística como média, desvio padrão e testes estatísticos de associação de variáveis quantitativas (correlação).

Para as correlações entre grupos amostrais, aplicou-se o teste **T**, adotando-se índice de confiança de 95% (erro fixado em 5%), no qual a correlação probabilística é significativa para valores de P forem menores que 0,05.

Para se estimar valores de variáveis a partir da microscopia num esfregaço sanguíneo corado, aplicou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Valor estimado (mm}^3\text{)} = \frac{[\text{valor absoluto final} \times \text{contagem global de hemácias}]}{[\text{n}^\circ \text{ hemácias estimadas por campo} \times \text{X campos examinados}]}$$

\*O valor absoluto final é o resultado da contagem da variável estudada nos X campos examinados.

## 4. RESULTADOS

A caracterização geral (viveiro de origem, sexo, peso, estado corporal, situação reprodutiva e comportamento) de cada papagaio-verdadeiro que compôs a amostra estudada está apresentada no Anexo I.

### 4.1. SÉRIE ERITROCÍTICA

#### 4.1.1. Eritrometria

Os eritrócitos dos papagaios-verdadeiros estudados eram células grandes, que apresentavam formato ovóide e núcleo (Figura 1). Nestas células observaram-se perfis achatados na secção transversal, com uma ligeira saliência de volume na região do núcleo. O citoplasma tinha coloração acidofílica. O núcleo era ovóide e alongado e estava geralmente centralizado na célula, seguindo a mesma orientação longitudinal desta. No núcleo

pôde-se observar cromatina densa (núcleo paquicromático) com bordas regulares.

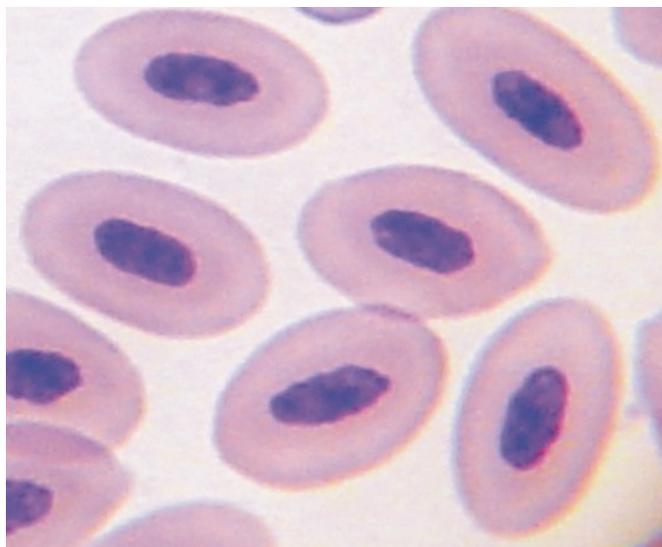


Figura 1 – Eritrócitos típicos do papagaio-verdadeiro.

Os resultados da série eritrocítica dos hemogramas estão apresentados no

Anexo II (página 60) e são resumidos na Tabela 8.

Tabela 8: Eritrograma dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média	Desvio Padrão
Hm – Contagem global de hemácias ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	2,54	0,45
Hb – Hemoglobina Total (g/dL)	16,28	1,13
Ht – Hematócrito (%)	44,66	4,45
VCM – Volume corpuscular médio ( $\mu\text{m}^3$ ou fL)	179,99	32,15
HCM – Hemoglobina Corpuscular Média ( $\mu\text{g}$ ou pg)	65,50	8,15
CHCM – Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dL ou %)	36,51	2,90

Quando os resultados foram analisados agrupando-se os animais quanto ao sexo, não foram observadas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) para nenhum dos

parâmetros da série eritrocítica (Anexo XIII – página 71).

#### **4.1.2. Eritrócitos Imaturos**

A caracterização das células imaturas da linhagem eritróide do papagaio-verdadeiro está descrita na tabela 5. A observação de formas eritoblásticas, como o rubrícito

(Figura 2) ou metarubrícito era rara, mas ocorria. Entretanto, eritrócitos policromáticos jovens e em estágio avançado eram encontrados frequentemente (Figura 3).

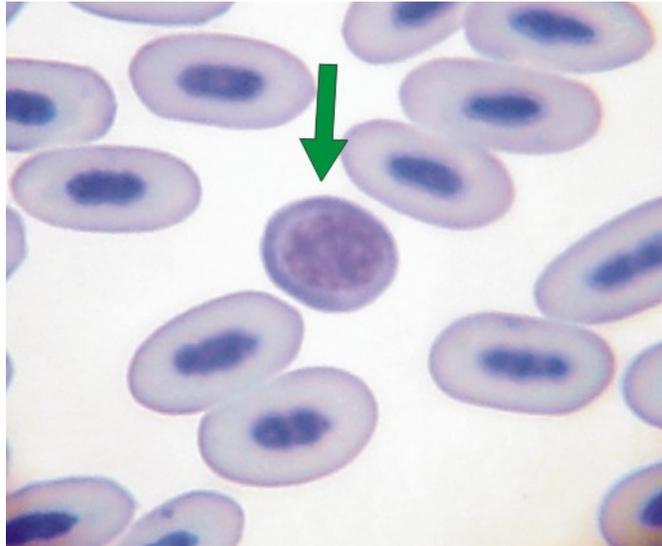


Figura 2 – Rubrícito do papagaio-verdadeiro. Notar maior volume citoplasmático, menor basofilia e ausência do nucléolo.

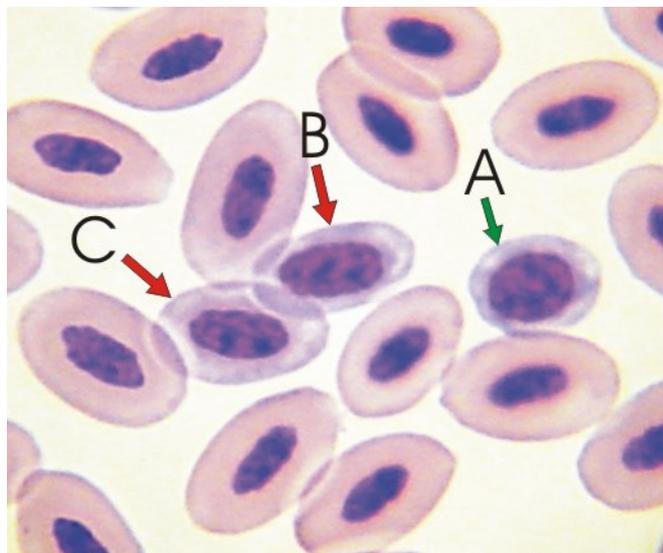


Figura 3 – Metarubrícito (A), eritrócito policromático jovem (B) e eritrócito policromático avançado (B) de papagaio-verdadeiro.

Nas tabelas 9 e 10, estão resumidos os parâmetros de policromasia da série eritrocítica, discriminados em eritrócitos policromáticos, rubrícito e metarubrícito,

observados neste estudo. Os resultados individuais estão apresentados no Anexo III (página 61).

Tabela 9: Policromasia nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média		Desvio Padrão	
	X 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	%	X 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	%
<i>Eritrócitos imaturos totais</i>	32,06	100,00 %	1,85	57,71 %
Rubrícito	0,06	0,19 %	0,00	1,39 %
Metarubrícito	0,35	1,09 %	0,02	4,51 %
Eritrócito Policromático Jovem	3,97	12,38 %	0,47	11,94 %
Eritrócito Policromático Avançado	27,68	86,34 %	13,86	50,08 %

Nota: foram analisados 1.098 eritrócitos imaturos, aproximadamente 19 células por animal.

Tabela 10: Policromasia relativa, sobre eritrócitos totais nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média	Desvio Padrão
<i>Eritrócitos imaturos totais</i>	1,2620 %	57,71 %
Rubrícito	0,0023 %	1,39 %
Metarubrícito	0,0138 %	4,51 %
Eritrócito Policromático Jovem	0,1560 %	11,94 %
Eritrócito Policromático Avançado	1,0897 %	50,08 %

Nota: Para categorias, vide Tabela 5.

Quando os resultados foram analisados agrupando-se os animais quanto ao sexo, não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) para nenhum dos parâmetros hematológicos (Anexo XIII – página 71).

#### **4.1.3. Alterações Morfológicas**

Nos esfregaços estudados, poucas alterações morfológicas foram encontradas.

Somente dois eritrócitos em mitose foram visualizados (Figura 4). Eritrócitos anisocíticos ou poiquilocíticos não ultrapassaram contagem superior a 10 (dez) células por campo em nenhuma das lâminas estudadas. Eritrócitos binucleados eram raramente visualizados, nunca mais que um ou dois por lâmina, quando presentes. Somente no esfregaço de uma única ave (Anilha FVV 570) se observou contagem significativamente elevada, onde se estimou 17,6% de células anormais. Eritroplastídeos (Figura 5) também eram raramente visualizados, nunca mais que um ou dois por lâmina, quando presentes. Não foram observadas hematogônias.



Figura 4 – Eritrócito em mitose no sangue periférico de *Amazona aestiva*.

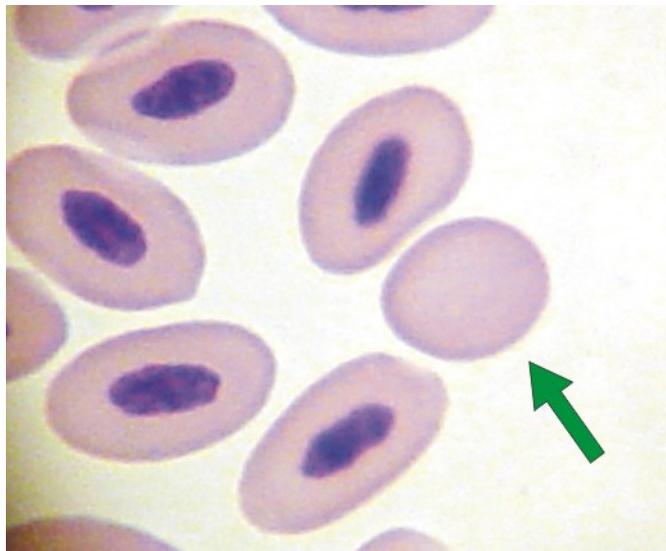


Figura 5 – Eritroplástídeo de papagaio-verdadeiro.

#### 4.2. TROMBÓCITOS

Os trombócitos do papagaio-verdadeiro (Figura 6) eram células mononucleadas, ovaladas, mas com extremidades mais arredondadas, quando comparado aos eritrócitos. Entretanto observaram-se variações de forma, descritas e quantificadas nas Tabelas 12 e 13. Estes em geral tinham entre um terço a metade do tamanho das hemácias, basicamente devido

a um menor conteúdo citoplasmático. O citoplasma era basofílico de pouca intensidade ou mesmo neutrofílico. Apresentava uniformidade no citosol, mas era comum visualizarmos uma ou mais vacuolizações (Figura 7) ou pequenas granulações densas, acidofílicas ou basofílicas. O núcleo, cujo volume era semelhante ao núcleo do eritrócito, era ovalado ou redondo (Figura 8) especialmente em trombócitos classificados como reativos (CAMPBELL, 1995). A cromatina era compacta e densa.

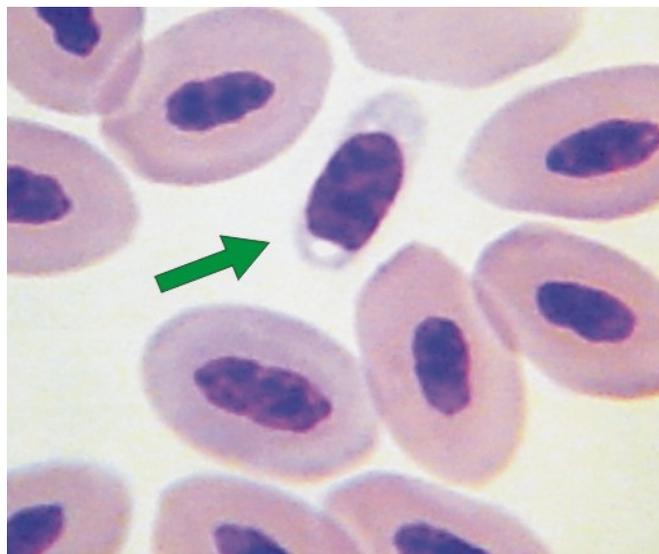


Figura 6 – Trombócito típico do papagaio-verdadeiro.

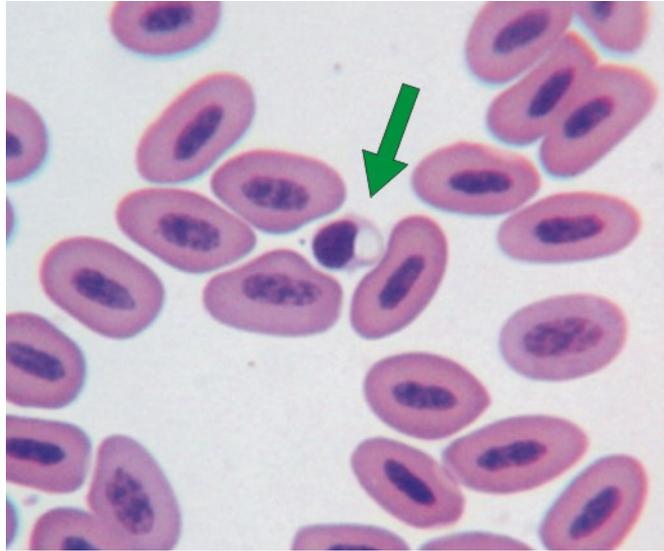


Figura 7 – Trombócito de papagaio-verdadeiro contendo um grande vacúolo citoplasmático.

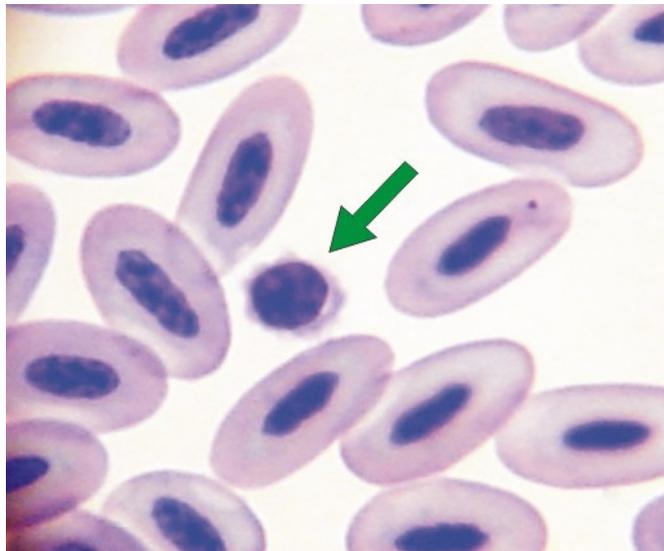


Figura 8 – Trombócito reativo no esfregaço sanguíneo do papagaio-verdadeiro.

Os resultados da série trombocítica de todas as aves estão apresentados no Anexo IV. Na Tabela 11, estão

resumidos os parâmetros quantitativos de trombócitos, observados neste estudo.

Tabela 11: Contagem absoluta de trombócitos nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média	Desvio Padrão
Trombócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	16,61	7,45

Quando os resultados foram analisados agrupando-se os animais quanto ao sexo, não se observou diferença significativa

( $P>0,05$ ) para este parâmetro (Anexo XIII – página 71).

#### **4.2.1. Características Morfológicas**

Foram avaliadas as principais características morfológicas dos

trombócitos dos papagaios-verdadeiros observadas neste estudo (Anexos IV e V – págs. 62 e 63) e os parâmetros de caracterização morfológica estão descritos nas Tabelas 12 e 13.

Tabela 12: Caracterização morfológica dos trombócitos, quanto aos perfis celulares e nucleares, observada nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média	Desvio Padrão
Célula e núcleo alongados	79,03 %	31,81%
Célula alongada e núcleo arredondado	5,40 %	8,06%
Célula e núcleo arredondados	15,57%	30,49%

Nota: foram analisadas 5.800 trombócitos, 100 células por animal.

Tabela 13: Caracterização morfológica dos trombócitos, quanto ao número de vacuolizações, observada nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média	Desvio Padrão
Sem vacúolos citoplasmáticos	60,71%	5,02%
1 vacúolos citoplasmáticos	24,61%	3,15%
2 vacúolos citoplasmáticos	11,58%	2,03%
3 vacúolos citoplasmáticos	2,99%	0,92%
4 vacúolos citoplasmáticos	0,11%	0,13%

Nota: foram analisadas 1.036 trombócitos, aproximadamente 18 células por animal.

### 4.3. SÉRIE LEUCOCÍTICA

#### 4.3.1. Leucometria

Os resultados da série leucocítica dos hemogramas estão apresentados no Anexo VI (página 64) e são Resumidos na Tabela 14.

Tabela 14: Leucograma dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média		Desvio Padrão	
	X 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	%	X 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	%
<b>Leucócitos totais</b>	<b>7,01</b>	<b>100,00 %</b>	<b>4,15</b>	<b>59,2%</b>
Heterófilos	3,40	49,00%	2,05	60,3%
Linfócitos	3,37	47,67%	2,83	84,1%
Monócitos	0,158	2,14%	0,157	99,5%
Basófilos	0,08	1,09%	0,09	113,8%
Eosinófilos	0,02	0,29%	0,05	257,6%

Quando os resultados foram analisados agrupando-se os animais quanto ao sexo, não foram observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) para nenhum dos parâmetros da série leucocítica, exceto para os valores de contagem total de basófilos. Para este tipo celular, os valores de P obtidos, para um intervalo de confiança de 95% ( $P = 0,018 < 0,05$ ) sustentam diferença estatisticamente relevante entre machos e fêmeas. (Anexo XIII – página 72).

#### 4.3.2. Granuloblastos

Granuloblastos (heterófilos, eosinófilos e basófilos imaturos, excluindo-se monócitos e neutrófilos imaturos) puderam ser eventualmente visualizados no sangue dos papagaios-verdadeiros estudados. Nos promielócitos do papagaio-verdadeiro (Figura 9) notaram-se granulações citoplasmáticas

finas, de cor púrpura intensa e núcleo pouco denso, não lobulado. A visualização do núcleo era dificultada pela sobreposição dos grânulos citoplasmáticos. Nos mesomiélócitos desta espécie (Figura 10), notaram-se granulações citoplasmáticas de tamanhos e cores variados, desde pequenos e intensamente púrpuras a maiores e em tons alaranjados. A visualização do núcleo era também dificultada pela sobreposição dos grânulos citoplasmáticos, entretanto, era possível perceber cromatina pouco compacta, sem lobulação evidente.

Das aves estudadas (N=58), foi possível visualizar prómielócitos e/ou mesomiélócitos em 18,97% (11 aves). Os resultados absolutos dos granuloblastos estão apresentados no Anexo VII. A Tabela 15 resume os parâmetros destes leucócitos imaturos sobre a população de aves.

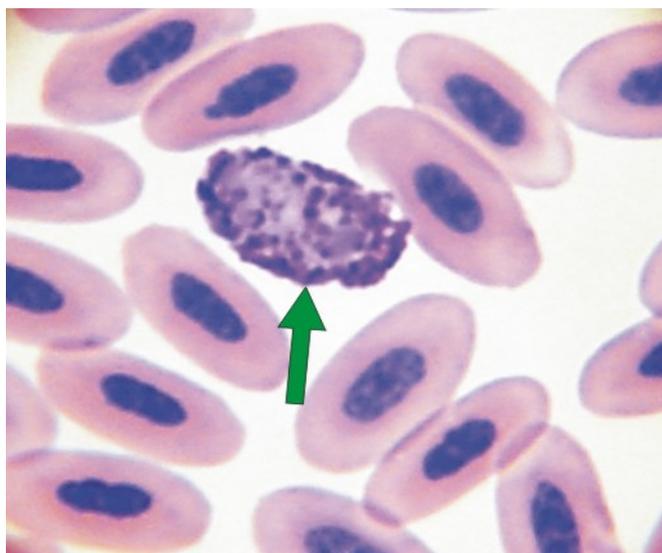


Figura 9 – Promielócito do papagaio-verdadeiro.

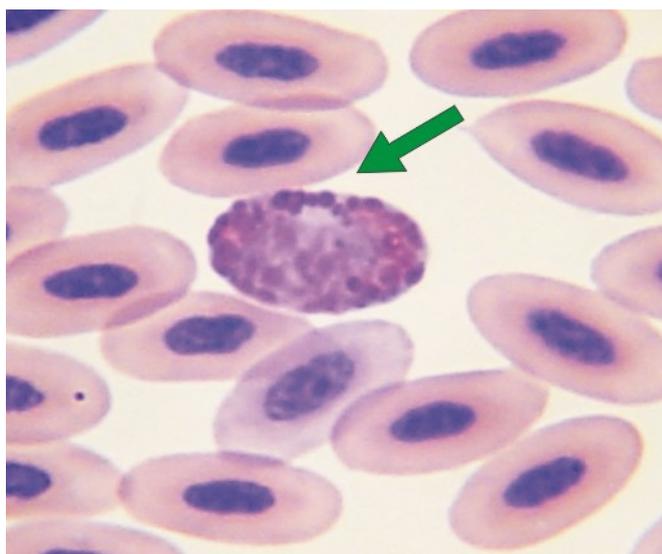


Figura 10 – Mesomiélócito do papagaio-verdadeiro.

Tabela 15: Contagem de granuloblastos nos papagaios verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média		Desvio Padrão	
	/mm <sup>3</sup>	%	/mm <sup>3</sup>	%
Granuloblastos totais	37,95	100,00 %	84,17	221,79 %
Promielócitos	17,52	46,16%	24,01	137,06%
Mesomiélócitos	20,43	53,84%	29,95	146,61%

### **4.3.3. Características morfológicas dos leucócitos.**

As Tabelas 16, 17, 18, 19 e 20 resumem as principais características morfológicas quantificáveis das linhagens celulares da série leucocítica dos papagaios-verdadeiros. Os resultados absolutos destas características estão apresentados nos Anexos, VIII, IX, X e XI.

#### **4.3.3.1. O heterófilo**

Os heterófilos do papagaio-verdadeiro (Figura 11) tinham no citoplasma grande quantidade de grânulos acidofílicos em formato ovalado. Encontravam-se eventualmente, corpúsculos refrativos ao centro de cada grânulo, principalmente quando estavam hipocorados. Os núcleos deste tipo celular era lobulados (Tabela 16). A cromatina visualizada era moderadamente densa (aspecto lepdocromático). A perfeita visualização nuclear dos heterófilos era por vezes, atrapalhada pela sobreposição dos grânulos citoplasmáticos por sobre o núcleo.

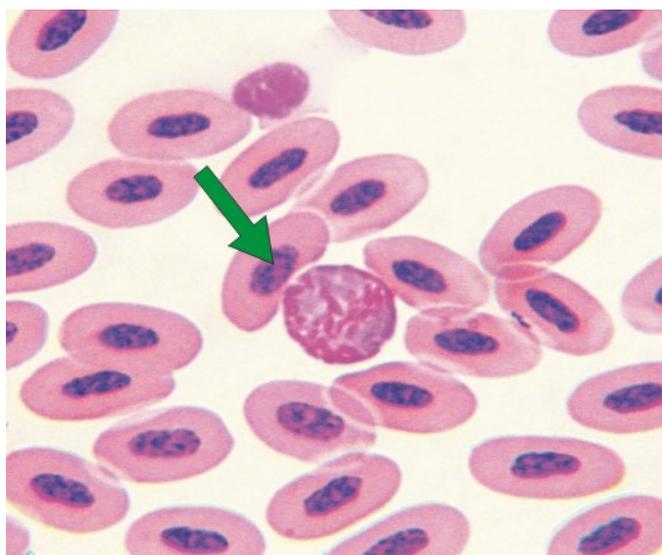


Figura 11 - Heterófilo do papagaio-verdadeiro.

Tabela 16: Caracterização dos heterófilos, quanto à morfologia nuclear, nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58)

<b>Parâmetro</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Núcleo sem lobulação	12,48%	13,96%
Núcleo bilobulado	77,52%	29,32%
Núcleo trilobulado	9,76%	15,94%
Núcleo quadrilobulado	0,24%	1,39%

Nota: foram analisados 1.250 heterófilos, aproximadamente 22 células por animal.

#### 4.3.3.2 O eosinófilo

Os eosinófilos do *A. aestiva* (Figura 12) continham abundante granulação citoplasmática, com grânulos esféricos que se coravam de forma acidofílica intensa.

Nos eosinófilos, assim como nos heterófilos, observaram-se predominantemente núcleos lobulados. A cromatina visualizada também tinha aspecto lepdocromático.

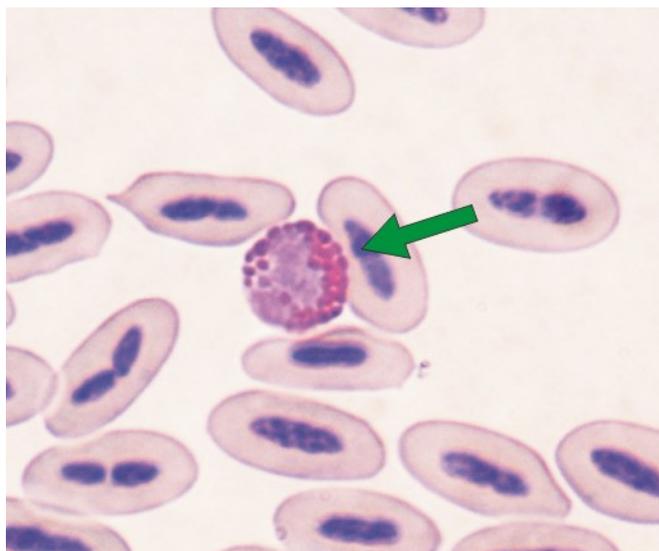


Figura 12 – Eosinófilo do papagaio-verdadeiro.

Tabela 17: Caracterização dos eosinófilos, quanto à morfologia nuclear, nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média	Desvio Padrão
Núcleo sem lobulação	37,5%	161,96%
Núcleo bilobulado	56,25%	177,09%
Núcleo trilobulado	6,25%	47,60%

Nota: foram analisadas 16 eosinófilos.

#### 4.3.3.3 O basófilo

No papagaio-verdadeiro, este tipo celular tinha o citoplasma preenchido por grânulos grandes, esféricos e intensamente

basofílicos. Nos basófilos estudados encontraram-se núcleos lobulados ou não (Tabela 18). Nestes, era possível perceber cromatina lepidocromática a paquicromática, ou seja, ligeiramente mais adensada que dos demais granulócitos.

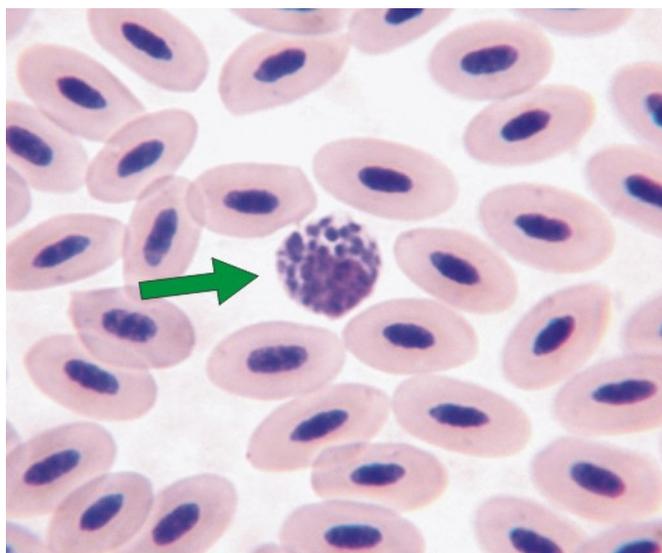


Figura 13 - Basófilo do papagaio-verdadeiro.

Tabela 18: Caracterização dos basófilos, quanto à morfologia nuclear, nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média	Desvio Padrão
Núcleo sem lobulação	52,38%	73,39%
Núcleo bilobulado	46,03%	65,10%
Núcleo trilobulado	1,59%	12,09%

Nota: foram analisadas 63 basófilos.

#### 4.3.3.4 O linfócito

Em papagaios-verdadeiros, foram encontrados linfócitos (Figura 14) com significativo grau de polimorfismo (Tabelas 19 e 20). Eram tipicamente menores que os eritrócitos, sendo somente maiores que os trombócitos. Estes eram células redondas e com contornos usualmente regulares. O núcleo era redondo e regular com cromatina densa (aspecto paucicromático). O citoplasma, muito escasso, formava um halo estreito ao redor do núcleo, apresentava uma textura hialina ou ligeiramente granular e era corado em tons azulados (basofilia). Foram encontrados também, linfócitos maiores, do tamanho de um eritrócito ou maior, com citoplasma

ligeiramente mais abundante e mais intensamente corado. Nestes a cromatina era menos adensada. Raramente, encontraram-se linfócitos caracterizados pelo aspecto excêntrico do núcleo, que apresentava na borda central, uma depressão nuclear e no citoplasma mais abundante, uma área adjacente mais clara, sugerindo ser um plasmócito (Figura 15). Em alguns linfócitos, encontraram-se protusões citoplasmáticas, conferindo aspecto amebóide à célula (Figura 16). Além das protusões citoplasmáticas, encontraram-se linfócitos de aspecto polimórfico, linfócitos com maior conteúdo citoplasmático, que podem se assemelhar a monócitos. A Tabela 20 mostra a frequência destas populações de linfócitos.

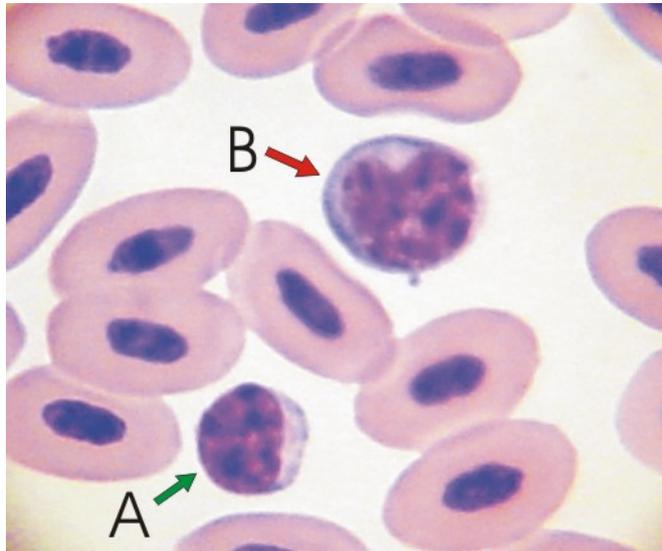


Figura 14 – Linfócito pequeno ou típico (A) e linfócito médio (B) do papagaio-verdadeiro.

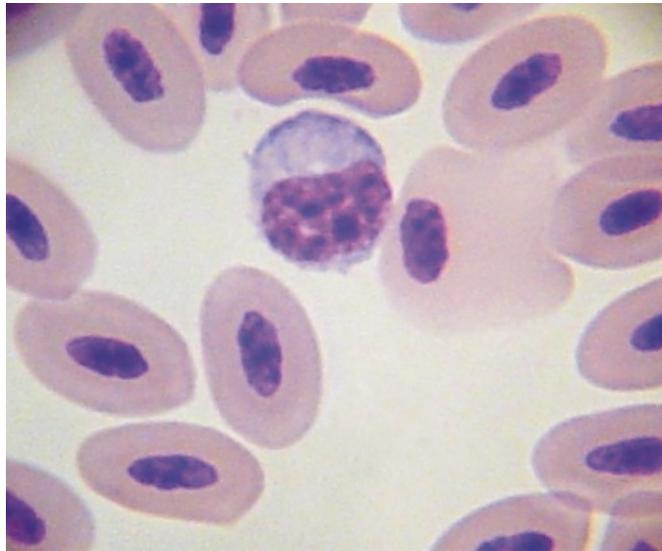


Figura 15 – Linfócito atípico de papagaio-verdadeiro.

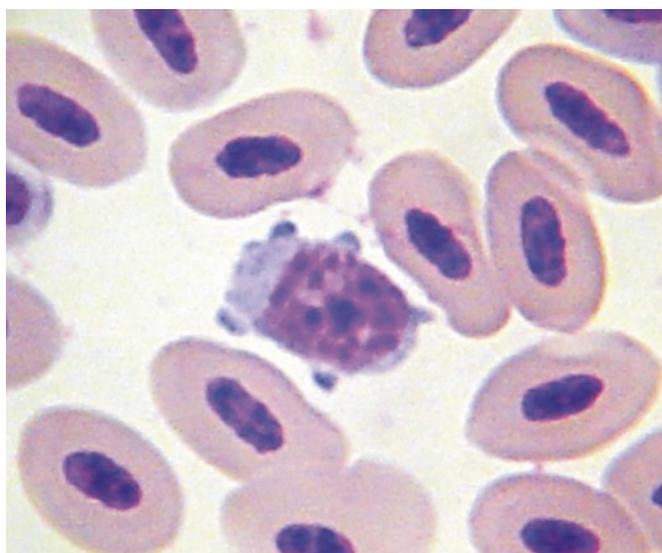


Figura 16 – Linfócito de papagaio-verdadeiro, com aspecto amebóide.

Tabela 19: Caracterização dos linfócitos por categoria nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média	Desvio Padrão
Linfócitos Pequenos (linfócitos típicos)	83,43%	49,07%
Linfócitos Médios	16,57%	13,31%

Nota: Foram analisados 1974 linfócitos, aproximadamente 34 células por ave.

Tabela 20: Caracterização dos linfócitos por atipias celulares, nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média	Desvio Padrão
Linfócitos com aspecto amebóide	3,85%	6,11%
Linfócitos polimórficos	1,67%	5,67%

Nota: Foram analisados 1974 linfócitos, aproximadamente 34 células por ave.

Os resultados individuais das análises morfológicas dos linfócitos estão descritos no Anexo XI. Quando os resultados foram analisados, agrupando-se os animais quanto ao sexo, não foram observadas diferenças

significativas ( $P > 0,05$ ) para nenhum dos parâmetros acima (Anexo XIII, página 71).

#### 4.3.3.5 O monócito

Os monócitos do *A. aestiva* (Figura 17 e 18) apresentavam citoplasmas abundantes, corados em tom evidentemente azulado (basofilia), permeados por discretas granulações. Esta granulação criava padrões quase reticulares, diferentes do citoplasma linfocítico, cujo aspecto é usualmente mais hialino. Nas amostras estudadas, notavam-se raramente vacuolizações ou inclusões citoplasmáticas. O formato celular do monócito era em geral arredondado, por vezes alongado, mas com contornos pouco regulares. Ocasionalmente encontravam-se protusões citoplasmáticas, gerando nas células um aspecto amebóide. O núcleo destas células era grande, de cromatina pouco densa, em posição excêntrica e

geralmente em formato de rim humano. Entretanto, o polimorfismo nuclear era notável. Visualizavam-se desde núcleos arredondados e quase sem depressão à aqueles alongados, com dupla depressão conferindo um aspecto quase lobulado. No geral, a proporção citoplasma/núcleo do monócito do papagaio-verdadeiro é maior que do linfócito, mas algumas vezes esta diferença não era muito contrastante, especialmente quando comparados aos linfócitos maiores ou aos linfócitos atípicos.

Os resultados quantitativos individuais dos monócitos estão descritos no Anexo VI. Quando os resultados foram analisados, agrupando-se os animais quanto ao sexo, não foram observadas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) para nenhum dos parâmetros acima (Anexo XIII, página 71).

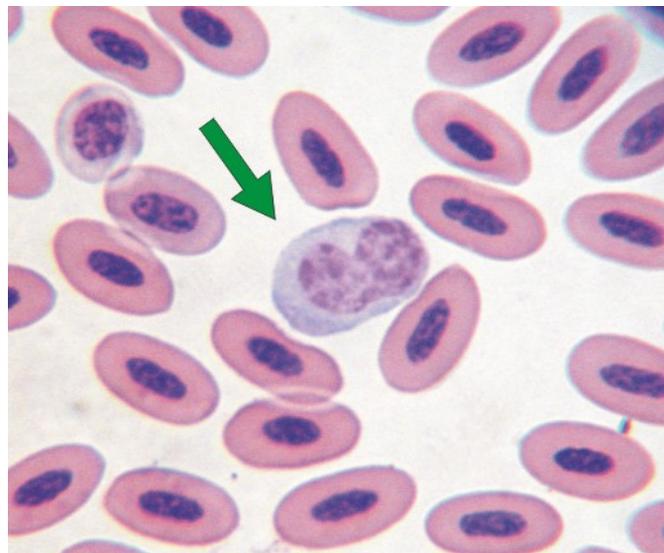


Figura 17 – Monócito típico do papagaio-verdadeiro.

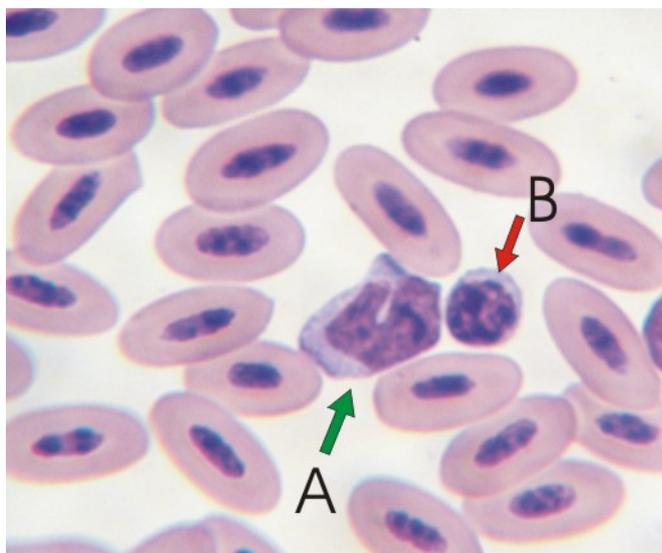


Figura 18 – Monócito (A) e linfócito (B) do papagaio-verdadeiro.

#### 4.4. AVALIAÇÃO HEMOPARASITÁRIA

Neste estudo, foi encontrado um único tipo de hemoparasita, na forma de pequenas estruturas em anel, uni ou binucleadas

compatíveis com trofozoítos de *Plasmodium sp.* (família Plasmodiidae – filo Apicomplexa, classe Haemosporida) (LEVINE, 1988; GARNHAM e DUGAN, 1986) (Figura 19). A Tabela 21 resume os resultados desta pesquisa. Todas as aves parasitadas estão indicadas no Anexo XII.

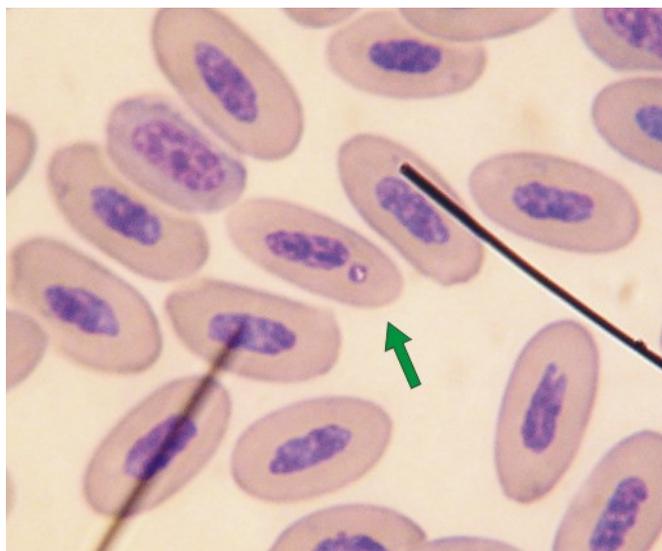


Figura 19 – Eritrócito de papagaio-verdadeiro, apresentando um trofozoíto de *Plasmodium sp.* (seta).

Tabela 21: Caracterização da ocorrência do hemoparasitismo por *Plasmodium sp.* nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

Parâmetro	Média (n)	
Aves parasitadas	29,31%	(17 aves)
Aves não parasitadas	70,69%	(41 aves)

Tabela 22: Avaliação da parasitemia por *Plasmodium sp.* nos papagaios-verdadeiros infectados (n =17).

Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
Parasitemia	0,031%	0,030%	0,010%	0,130%

Quando os resultados foram analisados, agrupando-se os animais quanto ao sexo, não foram observadas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) para nenhum dos parâmetros acima (Anexo XIV, página 72).

#### **4.4.1. Correlação entre o estado sanitário de aves parasitadas e não parasitadas.**

Todos os papagaios-verdadeiros deste estudo foram considerados clinicamente saudáveis. As características avaliadas bem como os resultados das avaliações estão apresentados no Anexo XIV (página 72).

Nas análises estatísticas, comparando-se aves parasitadas com as aves não parasitadas e ainda, agrupando-se os animais quanto ao sexo, não foram observadas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) para nenhum dos parâmetros.

#### **4.4.2. Correlação entre a função reprodutiva de aves parasitadas e aves não parasitadas.**

Um total de 15 aves - 25,86% da população estudada, reproduz naturalmente no cativeiro (Anexo I, página 59). Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) para a prevalência do *Plasmodium sp.* e para o grau de parasitemia entre os grupos de aves reprodutoras e não reprodutoras.

#### **4.4.3. Correlação entre os hemogramas de aves parasitadas e aves não parasitadas.**

Os seguintes parâmetros do hemograma foram analisados, agrupando-se as aves em dois grupos, aves parasitadas e aves não parasitadas: Contagem global hemácias; Hematócrito total; Hemoglobina total; Volume Corpuscular Médio; Hemoglobina Corpuscular Média; Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; contagem de metarubríctos; contagem de eritrócitos policromáticos jovens; eritrócitos policromáticos avançados;

contagem de trombócitos; contagem de leucócitos totais; contagem total de heterófilos; população parcial de heterófilos unilobulado; população parcial de heterófilos bilobulados; população parcial de heterófilos trilobulados; linfócitos totais; população parcial de linfócitos médios; população parcial de linfócitos pequenos; população parcial de linfócitos amebóides; população parcial de linfócitos polimórficos; monócitos totais; basófilos totais; e eosinófilos totais. Todos estão descritos no Anexo XIV (página 73).

De acordo com as análises estatísticas, para quase todos os parâmetros não foram encontradas diferenças relevantes entre os dois grupos, exceto para três parâmetros: contagem de eritrócitos policromáticos jovens (valor de  $P = 0,004$ ); contagem de eritrócitos policromáticos avançados (valor de  $P = 0,025$ ) e contagem total de eosinófilos (valor de  $P = 0,005$ ). Nos dois primeiros, os valores encontrados nas aves não parasitadas, são significativamente inferiores aos valores encontrados naquelas parasitadas, conforme apresentado na Tabela 23.

Tabela 23: Comparação entre a contagem de eritrócitos policromáticos de papagaios-verdadeiros parasitados por *Plasmodium sp.* e não parasitados (N=58).

Parâmetro	Aves Parasitadas		Aves não parasitadas	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Eritrócitos policromáticos jovens	0,26%	0,53%	0,11%	0,09%
Eritrócitos policromáticos avançados	0,95%	1,43%	0,20%	0,75%

Não foram visualizados eosinófilos em aves hemoparasitadas.

## 5. DISCUSSÃO

O hemograma, ferramenta auxiliar fundamental para as avaliações clínicas do papagaio-verdadeiro, só é útil quando da existência de parâmetros de referência fisiológica confiáveis. Entretanto, tornar tais parâmetros acreditáveis depende de análises sobre as variáveis intrínsecas e extrínsecas que podem resultar em modificações nos parâmetros hematológicos dos animais. Sexo, idade, estado nutricional, atividade física, estado sanitário, físico e mental, são todos exemplos de fatores que podem modificar os parâmetros hematológicos de indivíduos. Pesquisando-se a literatura, é possível constatar que os trabalhos de hematologia sobre *A. aestiva* até então existentes, pela natureza destes trabalhos, adotam poucos critérios de análise de dados e são muitas vezes incompletos (poucos, por exemplo, contabilizam trombócitos totais), ou mesmo só abordam uma variável específica, como por exemplo, valores de hematócrito. Muitos não revelam o tamanho amostral ou mesmo não descrevem o método empregado para o estudo, o que cria motivos para a desacreditação dos resultados.

No presente estudo, foi estabelecido um modelo animal com padronização metodológica: papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) cativo, adulto e em condições adequadas de saúde. A amostra foi composta por 58 (cinquenta e oito) aves, o que permite elevar o nível de confiabilidade dos parâmetros obtidos neste estudo.

Quanto à faixa etária da amostra estudada, levou-se em consideração a

disponibilidade das aves do local de estudo, composta na quase totalidade por aves adultas jovens. Se desta forma criou-se um modelo animal homogêneo, correu-se o risco de excluir possíveis variações etárias. Não tendo sido analisadas amostras sanguíneas de filhotes ou aves idosas, não é possível afirmar se existe variação por faixa etária nos perfis hematológicos para esta espécie. Entretanto, o papagaio-verdadeiro é considerado filhote por um período muito curto de sua vida, atingindo o porte de um adulto em cerca de 120 dias de vida e maturidade sexual entre 2 a 3 anos e com uma expectativa de vida muito longa, mais de 60 anos (HOYO *et al.*, 1997). Portanto, é mais provável a necessidade de valores de referência para a fase adulta da vida.

A análise de diferenças relacionada ao sexo é relevante, uma vez que existem diferenças importantes em muitas espécies animais, que perduram por toda a vida (JAIN *et al.*, 2000). No presente trabalho, somente no basófilo, observou-se diferença estatística relevante na comparação entre sexos ( $P = 0,018 < 0,05$ ), demonstrando que fêmeas têm aproximadamente o dobro da população deste tipo celular que o macho. Entretanto, o basófilo é um leucócito muito pouco representativo nas contagens leucométricas (fêmea: 1,54%, DP = 1,14; macho: 0,76%, DP = 0,85) e esta variação apresentada entre os sexos pode não ser clinicamente relevante.

A discussão, entretanto, não pode ser limitada aos valores numéricos absolutos das diversas linhagens sanguíneas. A avaliação citológica das células sanguíneas é fundamental para avaliarmos o estado fisiológico de um

animal (JAIN *et al.*, 2000). Na série eritrocítica, a avaliação do grau de policromasia é importante para o entendimento da dinâmica fisiológica normal de renovação dos eritrócitos e, conseqüentemente, para a caracterização de um quadro de responsividade regenerativa ou não, frente a um quadro patológico (anemia). Da mesma forma, alguns tipos de leucócitos (neutrófilos, heterófilos, eosinófilos e basófilos) também permitem avaliações. O grau de condensação da cromatina indica uma relação de idade entre estes leucócitos de uma mesma linhagem. Assim como na série eritrocítica, a partir da análise desta característica, é possível determinar valores que representam a dinâmica de renovação destes leucócitos. A quantificação de granulócitos imaturos (promielócitos e mesomielócitos) em circulação também constitui parâmetro importante para a avaliação da resposta leucocítica. O entendimento desta dinâmica é fundamental para caracterizarmos alterações das respostas leucocitárias, se do tipo regenerativas (maior frequência de células jovens) ou não (VAN DER HEYDEN, 1994; CAMPBELL, 1995). A qualificação dos linfócitos quanto ao polimorfismo citológico nos permite caracterizar aumento ou diminuição da atividade deste tipo celular, mesmo sem alteração numérica total. O incremento relativo de linfócitos médios e atípicos sugere maior atividade deste elemento (VAN DER HEYDEN, 1994; CAMPBELL, 1995; KOGUT *et al.*, 1998; MORGULIS, 2002). Portanto, é fundamental que o hemograma do papagaio-verdadeiro também expresse estas sub-populações das várias linhagens sanguíneas.

O trombócito é um tipo celular de fundamental importância, entretanto, é raro encontrar na literatura, valores de referência quantitativos e principalmente qualitativos (avaliações morfológicas) para o papagaio-verdadeiro. Sabendo que esta espécie celular tem participação ativa na defesa do organismo (GRECCHI *et al.*, 1980; MORGULIS, 2002; CAMPBELL, 1995; CHANG e HAMILTON, 1979), um aumento da contagem relativa deste tipo celular pode indicar resposta a uma infecção. A qualificação morfológica destas células pode fornecer subsídios extras para este diagnóstico, pois, sendo importantes fagócitos, a visualização de vacuolizações citoplasmáticas acima do padrão normal para a espécie pode indicar intensificação da atividade fagocítica. Por outro lado, o decréscimo na contagem total de trombócitos, associado à visualização de células degeneradas, pode indicar processos hemorrágicos (CAMPBELL e DEIN, 1984; VAN DER HEYDEN, 1994). Há que se considerar, entretanto, que trombócitos tem uma natureza frágil e, por isto, é comum a visualização de trombócitos degenerados em esfregaços sanguíneos que não foram confeccionados imediatamente após a coleta do sangue, em situações em que houve dificuldade ou demora na coleta ou em esfregaços que demoraram a secar, o que constitui artefato de técnica. Pela grande importância deste tipo celular, o trombócito não devia ser negligenciado nos exames hematológicos.

Na citologia do esfregaço sanguíneo, a avaliação hemoparasitária é também tarefa fundamental. As hemoparasitoses podem influenciar os resultados do

hemograma de um indivíduo. Portanto, animais hemoparasitados inseridos em uma amostra na qual se pretende estabelecer parâmetros hematológicos de referência fisiológica normal, podem provocar modificações nestes parâmetros. Neste caso, é necessário comparar estatisticamente o grupo de animais parasitados com o grupo dos não parasitados. Se as diferenças estatísticas obtidas forem significantes, estes animais devem ser excluídos do estudo da hematologia.

Nos papagaios-verdadeiros estudados, encontrou-se uma ocorrência moderadamente alta (29,31%) de aves hemoparasitadas por *Plasmodium sp.*. Entretanto a parasitemia nas aves infectadas estava baixa (Média = 0,031%; D.P = 0,031%). Procedida a comparação estatística entre os grupos: parasitado e não parasitado, não foram observadas diferenças significantes entre sexos, parâmetros clínicos e reprodutivos. Quanto ao hemograma, não se evidenciou diferença significativa nos parâmetros hematológicos entre ambos, exceto para os parâmetros de contagem dos eritrócitos policromáticos jovens e eritrócitos policromáticos avançados (valores de P = 0,004 e 0,025 respectivamente), no qual as aves parasitadas apresentam uma contagem significativamente maior das formas eritrocíticas jovens. Tais resultados permitem incluir os dados de todas as aves do estudo para a formação dos valores de referência para o papagaio-verdadeiro. Exceção somente se faz para as variáveis hematológicas: eritrócitos policromáticos jovens e eritrócitos policromáticos avançados, para os quais se deve excluir da amostra, as aves hemoparasitadas.

É possível supor que os papagaios-verdadeiros hemoparasitados do plantel estudado, por estarem submetidas a condições aceitáveis de cativeiro, detenham estado imunitário adequado. Imunocompetentes, estes animais conseguem eliminar eritrócitos parasitados e também manter uma maior taxa de reposição eritrocítica. Desta forma, estas aves permanecem num estado de equilíbrio hemodinâmico deslocado para a esquerda e ao mesmo tempo, conseguem manter a parasitemia em níveis mínimos, evitando assim a instalação da doença (malária aviária). Por isto, as alterações hematológicas se resumem à policromasia.

As considerações discutidas acima cumprem papel de ressaltar a importância dos critérios para avaliação da amostra utilizada em um estudo para determinação de parâmetros de referência hematológica. Sem que tais fundamentos sejam devidamente avaliados, não é possível conferir creditação a valores propostos.

## 6. CONCLUSÕES

A amostra deste estudo, composta por 58 (cinquenta e oito) papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva* – família Psittacidae), de ambos os sexos, jovens adultos, cativos e adaptados ao ambiente artificial e em adequadas condições de saúde, é significativa e representativa, para este modelo-animal.

Os valores hematológicos obtidos são adequados para o estabelecimento de parâmetros de referência fisiológica para o modelo-animal proposto. Destes resultados, conclui-se que, exceto para o parâmetro basófilos, não existem diferenças de valores hematológicos entre sexos. Os Valores hematológicos de referência para papagaios-verdadeiros mantidos em cativeiro estão reunidos no anexo XV (página 74).

À microscopia direta do esfregaço sanguíneo, observou-se hemoparasitose por *Plasmodium sp.* (família Plasmodiidae - Apicomplexa) cuja ocorrência foi considerada moderadamente alta (29,31%) embora a parasitemia tenha sido baixa (0,031% - D.P. = 0,030%). Os resultados permitiram concluir que não existe predileção com relação ao sexo das aves e concluiu-se também que esta parasitemia não causou alterações

significativas no estado de saúde clínica, nem nos parâmetros hematológicos das aves parasitadas, exceto por um aumento discreto nos índices de policromasia. Isto caracteriza o estado de portador saudável, o que significa que estas aves podem ser consideradas reservatórios deste protozoário.

Cabe finalmente ressaltar que a criação de avifauna brasileira, embora seja uma atividade recente, é uma atividade crescente e pode ser considerada de grande importância econômica. Esta nova atividade também contribui diretamente para a geração de novos postos de trabalho e para o surgimento de toda uma indústria especializada, como: fábricas de rações, de insumos outros como gaiolas, suplementos, medicamentos, etc., incremento do setor de prestação de serviços de veterinários, zootécnicos e biólogos, enfim cria todo um importante contexto econômico e social, além da fundamental razão ambiental.

Pelo acima exposto, pode-se concluir que a busca pelo conhecimento acerca das espécies silvestres brasileiras, especialmente nas coleções cativas, é essencial para o processo de conservação destas e, portanto, um desafio à medicina veterinária em seu papel ambiental e social.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREY, A.N.S. Diseases of wild birds in southern Africa. In: FOWLER, M. E. (ed.). *Zoo and wild animal medicine*. 3. Ed. Philadelphia: W.B. Saunders co., 1992. p. 164-166.
- ANDERSON, D. R. A method of preparing peripheral leucocytes for electron microscopy. *Journal of Ultra-Structures Research*, v. 13, p. 263-268, 1965
- ANDERSON, E.L.; STEPHENS, J.F. Changes in the differential leukocyte count of chicks inoculated with *Salmonella*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 19, n.5, p.726-730, 1970.
- ANDREASEN, C. B.; LATIMER, K. S. Cytochemical staining characteristics of chicken heterophils and eosinophils. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 19, n. 2, p. 51-54, 1990.
- ATKINSON, C.T. *et al.* Pathogenicity of avian malaria in experimentally-infected hawaii amakihi. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 36, n. 2, p.197-204, 2000.
- ATKINSON, C.T. Host specificity and morphometric variation of *haemoproteus meleagridis* (protozoa: haematosporina) in gallinaceous birds. *Canadian Journal of Zoology*, v. 64, p.2634-2638, 1986.
- BALLOU, J. Assessing risks of infectious diseases in captive breeding and reintroduction programs. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 24, p.327-335. 1993.
- BARKA, T.; ANDERSON, T. J. Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as couple. *Journal of Histochemistry Cytochemistry*, v. 10, p. 741, 1962.
- BENNETT G. F.; EYLES, D. E.; WARREN, M. C. W.; CHEONG, W. H. Biology of the malaysian strain of *Plasmodium juxtannucleare* Versiani & Gomes, 1941: The sporogonic stages in *Culex* (Culex). *Journal of Parasitology*, v. 52, p. 647 – 652, 1966.
- BENNETT, G.F.; CAMPBELL, A.G.; CAMERO, M. Hematozoa of passerine birds from insular Newfoundland. *Canadian Journal of Zoology*, v. 52, p.765-772, 1974.
- BENNETT, G.F.; LOPES, O.S. Blood parasites of some birds from São Paulo state, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 75, n. 1-2, p. 117-134, 1980.
- BENNETT, G.F.; PEIRCE, M.A. Morphological form in the avian haemoprotidae and an annotated checklist of the genus haemoproteus (kruse, 1890). *Journal of Natural History*, v. 22, p. 1683-1696, 1988.
- BENNETT, G.F.; THOMMES, G.F.; BLANCOU, F.; ARTOIS, M. Blood parasites of some birds from the Lorraine region, France. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 18, p. 81-88, 1982.
- BERTRAM, E.M. Characterization of duck thrombocytes. *Research of Veterinary Science*, v. 64, p. 267-70, 1998.
- BORSOOK, H; *et al.* Synthesis of hemoglobin in relation to the maturation of eritroid cells. *Nature*, v. 196, p. 347-350, 1962
- BOUNOUS, D. I.; STEDMAN, N. L. Normal avian hematology: chicken and turkey. In: FELDMAN, B.V.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. *Schalm's Veterinary hematology*. 5. Ed. Philadelphia, Williams & Wilkins, 2000. p. 1145-1154.
- CAMPBELL T.W. *Avian Hematology and Cytology*, 2. Ed., Ames: Iowa State Univ. Press, 1995; 104p.
- CAMPBELL T.W. Hematology. In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G.J.; HARRISON, L.R. (eds.) *Avian Medicine: Principles and Application*. Lake Worth: Wingers Publishing Inc., 1994, p. 176-198.
- CAMPBELL, T. W. Normal hematology of Psittacines. In: FELDMAN, B.V.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. *Schalm's Veterinary hematology*. 5. Ed.

- Philadelphia, Williams & Wilkins, 2000. p. 1155- 1160.
- CAMPBELL, T.W.; DEIN, F.J. Avian Hematology. The Basics. *Veterinary Clinics of North America Small Animals Practitioners*, v. 14, n. 2, p. 223-248, 1984.
- CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Estudo dos Parâmetros Hematológicos Em Frangos de Corte. *Arquivo do Instituto de Biologia*, v. 70, n. 4, p. 419-424, 2003.
- CHANG, C.; HAMILTON, P. B. The thrombocyte as the primary circulating phagocyte in chickens. *Journal of Reticuloendothelial Society*, v. 25, p. 585-590, 1979.
- CLUBB, S.L.; SCHUBOT, R.M.; JOYNER, K.; *et al.* Hematologic and serum biochemical reference intervals in juvenile cockatoos. *Journal of Association of Aviary Veterinary*, v. 5, n. 1, p. 16-26, 1991.
- CLUBB, S.L.; SCHUBOT, R.M.; WOLF, S. Hematologic and serum biochemical reference intervals for juvenile macaws, cockatoos and eclectus parrots. In: SCHUBOT, R.M.; CLUBB, K.J.; CLUBB, S.L. (eds.). *Psittacine Aviculture: Perspectives, Techniques and Research*. Loxahatchee: Avicultural Breeding and Research Center, 1992, vol. 18, p. 1-20.
- CLUBB, S.L.; CRAMM, D. Blood parasites of psittacine birds. A survey of the prevalence of haemoproteus, microfilaria and trypanosomes. In: Annual Proceedings of American Association of Zoo Veterinarian. *Annual Proceedings*. Seattle: 1981, p. 32-37.
- CONSOLI, R.A.G.B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA R. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. 2. Ed, Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1998. 225p.
- COOK, R.S.: *Leucocytozoon* and *Haemoproteus*. In: DANIS, J.W.; ANDERSON, R.C.; KARSTAD, L. (ed.). *Enfermidades Infecciosas y Parasitarias de Las Aves Silvestres*. Ames: The Yowa State University Press, 1977. p. 229-316.
- CUBAS, Z.S. Natural diseases of free-ranging birds in South America. In: FOWLER, M. E. (ed.): *Zoo and Wild Animal Medicine*. 3. Ed., Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1992, p. 169-172.
- DESSER, S.S.; BENNETT, G.F. The genera *leucocytozoon*, *Haemoproteus*, and *Hepatocystis*. In: KEIER, J.P. (ed.) *Parasitic Protozoa*. San Diego: Academic Press inc., 1996. vol. 4, p. 273-307.
- DUNCAN J.R.; PRASSE K.W.; MAHAFFEY E.A. *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 3. Ed. Ames: Iowa State University Press, 1994, 232p.
- EGAMI, M.I.; SASSO, W.S. Topochemistry of blood cells of the *Gallus domesticus* (Aves, Galliforme). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 51, n. 1, p. 211-214, 1991.
- ELSBACH, P. Degradation of microorganisms by phagocytic cells. *Revisable Infectious Diseases*, v. 2, p.106-128, 1980.
- EVANS, E.W. *et al.* Isolation of antimicrobial peptides from avian heterophils. *Journal of Leukocyte Biology*, v. 56, p. 661-686, 1994.
- FEDYNICH, A.M.; BRIAN, L.; HARIS, M.J.: Hematozoa on the endangered wood stork from Georgia. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 34, n. 1, p.165-167, 1998.
- FEDYNICH, A.M.; RHODES JR., O.E.: Hemosporid (Apicomplexa, Hematozoa, Hemosporida) community structure and patern in wintering wild turkeys. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 31, n. 3, p. 404-409, 1995.
- FERREIRA NETO, J.M.; VIANA, E.S.; MAGALHÃES, L.M. *Patologia clínica veterinária*. Belo Horizonte: Rabelo e Brasil, 1978. 293p.
- FORSHAW; J.M.; W.T.; COOPER. *Parrots of the World*. New Jersey: T.F.H. Pub., Inc. Neptune, 1997; 545p.

- FRYE, F.L. (ed.) *Biomedical and Surgical Aspects of Captive Reptile Husbandry*. 2. Ed. Melbourne: Krieger Publishing Company, 1991, 635p. (Vol. 1 – 2).
- FUDGE, A.M. Blood testing artifacts: interpretation and prevention. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 3, n. 1, p. 2-4, 1994.
- FUDGE, A.M. Problem-oriented approach to blood panel interpretation. In: *Proceedings of the Association of Avian Veterinarians*. 1998, St. Paul, MN, p. 285-299.
- GARCIA DEL CAMPO, A.L.; HUECAS, V.; FERNANDEZ, A.; PUERTA, M.L. Hematology and blood chemistry of macaws, *Ara rubrogenys*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 100, n. 4, p. 943-944, 1991.
- GARNHAM, P.C.C. *Malaria Parasites and Other Haemosporidia*. Oxford: Blackwell Science Publisher, 1966. 1114p.
- GARNHAM, P.C.C.; DUGAN, A.J. *Catalogue of the Garnham Collection of Malaria Parasites and other Haemosporidia*, New York: Press Syndicate of The University Cambridge, 1986. 191p.
- GARVIN, M.C.; GREINER, E.C. Epizootiology of *haemoproteus danieliewskyi* (haemosporina: haemoproteidae) in blue-jays (*Cyanocitta cristata*) in southcentral florida. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 39, n. 1, p. 1-9, 2003.
- GRECCHI, R.; SALIBA, A.M.; MARIANO, M. Morphological changes, surface receptors and phagocytic potential of fowl mononuclear phagocytes and thrombocytes in vivo and in vitro. *Journal of Pathology*, v. 130, p.23-31, 1980.
- HARMON, B.G. Avian heterophils in inflammation and disease resistance. *Poultry Science*, v. 77, p. 972-977, 1998.
- HODGES, R.D.: Normal avian (poultry) haematology. In: ARCHER, R.K.; JEFFCOTT, L.B. (eds.). *Comparative clinical haematology*. London: Blackwell Scientific Publications, 1977. p. 483-517.
- HOYO, J. D.; ELLIOTT, A.; SARGATAL, J. (eds). *Handbook of the birds of the World*. Barcelona: Lynx Ediciones, 1997, 369p., vol. 4 (vol. 1-10).
- HUS, C.K.; CAMPBELL, G.R.; LEVINE, N.D. A checklist of the species of the genus *Leucocytozoon*. *Journal of Protozoology*: v. 20, p. 195-203. 1973.
- IBAMA: Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção <http://www.ibama.gov.br/port/sbff/ fauna/index.cfm>. Acessado em janeiro de 2005.
- JAIN, N.C.; FELDMAN, B. F.; ZINKL, J.G. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5. Ed., Philadelphia: Lea & Febiger, 2000. 538p.
- JANZARIK, H.; MORGENSTERN, E. Nucleated thrombocytoid cells I. Electron microscopic studies on chicken blood cells. *Thrombosis and Haemostasis*, v. 41, p. 608-621, 1979.
- JANZARIK, H. Nucleated thrombocytoid cells II. Phase and interference contrast microscopic studies on blood cells of the domestic fowl. *Cell and Tissue Research*, v. 219, n. 3, p. 497-510, 1981.
- JOHNSON-DELANEY, C.A. *Exotic Companion Medicine Handbook for Veterinarians*. Lake Worth: Wings Publishing Inc., 1996. 116p.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 9. Ed., Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan S.A., 1999; 427 p.
- KARESH, W.B.; DEL CAMPO, A.; BRASELTON, W.E. *et al.* Health evaluation of free-ranging and hand-reared macaws (*Ara spp.*) in Peru. *Journal of Zoo Wildlife Medicine*. v. 28, n. 4, p. 368-377, 1997.
- KELLY, R.; EDMAN, J.E. Multiple transmission of *Plasmodium gallinaceum* (Eucoccida: Plasmodiidae) during serial probing by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) on

- several hosts. *Journal of Medical Entomology*, v. 29, p. 329-331, 1992.
- KLASING, K.C. Avian macrophages: regulators of local and systemic immune responses. *Poultry Science*, v. 77, p. 983-989, 1998.
- KOGUT, M.H.; LOWRY, K.; MOYSES, R.B. *et al.* Lymphokine-augmented activation of avian heterophils. *Poultry Science*, v. 77, p. 964-971, 1998.
- KOHAYAGANA, A.; SAUKAS, T.N.; BORETTI, L.P.; *et al.* Valores hematológicos em frangos de corte de criação industrial no Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Ciências Avícolas*, v. 3, p. 82, 2001.
- KOKOSHAROV, T. Changes in the white blood cells and specific phagocytosis in chicken with experimental acute fowl typhoid. *Veterinarski Arhiv*, v. 68, p. 33-38, 1998.
- KRETTLI, A.U. *Estudos sobre prevalência, biologia e transmissão do Plasmodium juxtannucleare* Versiani & Gomes, 1941. 1971, 73f. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- LEVINE, N.D. *The Protozoan Phylum Apicomplexa*, Boca Raton: C.R.R. press, 1988. 587p. (vols. I e II).
- LISON, L. Lipides et lipoproteines. In: *Histochimie et cytochimie animales. Principes et méthodes*. Paris: Gauthier-Villares, 1960. v. 2. p. 449-530.
- LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; CASTRO, F.A. *Culex saltanensis* Dyar, 1928 - Natural vetor of *Plasmodium juxtannucleare*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, V. 86, p. 87-94, 1991.
- LUCAS, A.M.; JAMROZ, C. *Atlas of Avian Hematology*, Washington: U.S. Department of Agriculture, 1961, 271p.
- MASSARD, C.L. *Aspectos biológicos de Plasmodium juxtannucleare* - Versiani & Gomes, 1941 - em aves do Brasil. 1976. 53f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, Rio de Janeiro.
- MASSARD, C.L. Caracterização do Parasitismo por *Plasmodium juxtannucleare* (Haemosporidea: Plasmodiidae) em Criações de *Gallus gallus* da Raça Leghorn Branca. *Arquivos da Universidade Federal Rural*, v. 5. p. 141-146, 1982.
- MASSARD, C.L. Significância das infecções causadas por *Plasmodium (Noyella) juxtannucleare* - Versiani & Gomes, 1941 (Haemosporida: Plasmodiidae) em *Gallus gallus* de criação industrial no estado do Rio de Janeiro. 1979. 57f. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, Rio de Janeiro.
- MASSARD, C.L.; MASSARD, C.A. Aspectos biológicos do *Plasmodium (Noyella) juxtannucleare* (Versiani & Gomes, 1941) em aves do Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 4, p. 3-24, 1981.
- MASSONE, F. *Anestesiologia Veterinária: Farmacologia e Técnicas*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1988. 235p.
- MAXWELL, M. A.; TREJO, F. The ultra structure of white blood cells and thrombocytes of the domestic fowl. *British Veterinary Journal*, v. 126, p. 583, 1970.
- MERINO, S.; MORENO, J.; SANZ, J.; ARRIERO, E. Are avian blood parasites pathogenic in wild? A medication experiments in blue tits. *Proceedings of Royal Society of London*, v. 267, p.2507-2510, 2000.
- MERINO, S.; POTTI, J.; FARGALLO, J.A. Blood parasites of passerine birds from central Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 33, n. 3, p. 638-641, 1997.
- MORGULIS, M.S. Imunologia aplicada. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (eds.). *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 248-316.
- MOTA, R.A.; CUNHA, E.L.P.; SOARES, C.O.; *et al.*: Variáveis Hematológicas em *Gallus gallus domesticus*, Linnaeus, 1758, de criações rústicas da região metropolitana do Recife,

- naturalmente infectados com *Plasmodium juxtannucleare* (Versiani & Gomes, 1941). *Ciência Veterinária Tropical*, v. 1, p. 76-80, 1998
- MOTA, R.A. Variações hematológicas em *Gallus gallus domesticus*, Linnaeus, 1758, de criações rústicas da região metropolitana do Recife, naturalmente infectados com o *Plasmodium (Novyella) juxtannucleare*, Versiani & Gomes, 1941. 1997. 58f. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.
- NIRMALAN, G.P.; ATWAL, O.S.; CARLSON, H.C. Ultra structural studies on leukocytes and thrombocytes in circulating blood of japanese-quail. *Poultry Science*, v. 51, n. 6, p. 2050-2055, 1972.
- OLIVEIRA, C.E. *Criopreservação e caracterização morfológica, morfométrica e ultra-estrutural de Plasmodium (Novyella) juxtannucleare, Versiani & Gomes, 1941 (Apicomplexa: Plasmodiidae)*. 2001. 64f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.
- PELLIZON, C.H. *Participação de trombócitos de tartaruga em processos endocíticos. Uma análise ultra-estrutural e citoquímica*. 1996. 89f. Dissertação de Mestrado. Escola Paulista de Medicina. São Paulo.
- POLO, F.J.; PEINADO, V.I.; VISCOR G.; PALOMEQUE, J. Hematologic and plasma values in captive psittacine birds. *Avian Diseases*, v. 42, p. 523-535, 1998.
- POWELL, P.C. Immune mechanisms in infections of poultry. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 15, p. 87-113, 1987.
- QURESHI, M.A. Role of macrophages in avian health and disease. *Poultry Science*. v. 77, p. 978-982, 1998.
- RICCHIE, B.W.; HARRISON, G.J.; HARRISON, L.R. (eds.). *Avian Medicine: Principles and Application*. Flórida: Wingers Publishing. 1995. 1384p.
- RIES, S.; KAUFER, I.; REINACHER, M.; WEISS, E. Immunomorphologic characterization of chicken. *Cell Tissue Research*. V. 236, n. 1, p. 1-3, 1984.
- RESENDE, J.S., MARTINS, N.R.S.; JORGE, M.A. An outbreak of malaria by *Haemoproteus columbae* in pigeons. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 53, n. 3, p. 361, 2001.
- ROONEY, M.B.; BURKHARDT, M.J.; GREINER, E.; JOHNSON, J. prevalence of intestinal and hemoparasitas in various *Amazona spp.* Destined for relocation in Guatemala. *Proceedings AAZV and AAWV Joint Conference*, p.359-361. 1998.
- ROSSKLOPF, W.; WOERPEL, R. Avian hematology. *Proceedings of American Association of Zoological Veterinary*, p. 134-43, 1983.
- ROSSKLOPF, W.; WOERPEL, R. *Diseases of Cage and Aviary Birds*, 3. Ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996, 1059p.
- RUPLEY, A.E. *Manual of Avian Practice*. Philadelphia: WB Saunders Co., 1997, 360p.
- SAAD, C. E. P. *Avaliação de alimentos e determinação das necessidades de proteína para manutenção de papagaios-verdadeiros (Amazona aestiva)*. 2003. 114p. Tese de Doutorado. Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SANTOS, L.C. *Laboratório ambiental*. Cascavel: Ed. Universitária EDUNEOESTE, 1999. 341p.
- SEBAIO, F. *Hemoparasitas em Aves da Mata Atlântica no Estado de Minas Gerais*. Dissertação de Mestrado. 2002. 98f. Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SICK, H. *Ornitologia Brasileira, uma Introdução*. 3. Ed., Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 514p
- SIMPSON, C.F. Ultrastructural features of the turkey thrombocyte and

- lymphocyte. *Poultry Science*, v. 41, p. 848-849, 1967.
- SOARES, C.O.; FONSECA, A.H.; MASSARD, C.L.; SOUZA, P.C.A. Significância da Malária Aviária em *Gallus gallus* de criações rústicas. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1995, Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Anais*. p. 201.
- SOUZA, P.C.A.; SOARES, C.O.; FREIXO, A.P.A.; *et al.* Proposta para padronização do cálculo da parasitemia em infecções pelo *Plasmodium juxtannucleare*. In: XI seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, Salvador, Bahia. *Anais*. p. 213.
- SOUZA, P.C.A. Malária Aviária: *Parasitismo por Plasmodium (Novyella) juxtannucleare Versiani & Gomes, 1941 em Gallus gallus de criações rústicas, nas mesorregiões do estado do Rio de Janeiro e aspectos clínicos e patológicos de sua infecção experimental*. 1998. 137f. Tese de Doutorado, Universidade Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.
- STURKIE, P.D. Blood: Physical characteristics, formed elements, hemoglobin, and coagulation. In: STURKIE P.D. (ed.). *Avian Physiology*. New York: Springer-Verlag, 1976, p. 53-75.
- SWAYNE, D.E.; STOCKHAM, S.L.; JOHNSON, G.S. Cytochemical properties of chicken blood cells resembling both thrombocytes and lymphocytes. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 15, n. 2, p. 17-24, 1986.
- SWEENEY, P.R.; CARLSON, H.C. Electron microscopy and histochemical demonstration of lysosomal structures in chicken thrombocytes. *Avian Diseases*, v. 12, n. 4, p. 636, 1968.
- VAN DER HEYDEN, N. Evaluation and interpretation of the avian hemogram. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 3, n. 1, p. 5-13, 1994.
- VEIGA, M.L.; EGAMI, M.I.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; RODRIGUES, E. L. Aspectos morfológicos y citoquímicos de las células sanguíneas de *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1844 (Characiformes, Characidae). *Revista Chilena de Anatomía*, v. 8, n. 2, p. 245-250, 2000.
- WHITE, E.M.; GREINER, E.C.; BENNETT, G.F. Distribution of the Hematozoa on neotropical birds. *Revista de Biología Tropical*, v. 26, n. 1, p. 43-102, 1978.
- WINTROBE, M.M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica*, v. 51, p.31, 1993.

**Anexo I:** Informação geral sobre os papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

<b>Identificação</b>	<b>Viveiro de origem</b>	<b>Sexo</b>	<b>Peso corporal (g)</b>	<b>Estado corporal</b>	<b>Estado reprodutivo</b>	<b>Comportamento</b>
CBT 31 10.0 002	28	M	536	O	NR	N
CBT 31 9.5 002	28	F	376	O	NR	N
FVV 262	229	M	474,5	O	NR	AP
FVV 265	3	F	338	O	NR	N
FVV 266	220	M	428	O	NR	N
FVV 275	195	M	461	O	R	N
FVV 276	60	F	375,5	O	NR	N
FVV 277	18	M	442	O	R	AP
FVV 281	238	M	384,5	O	NR	N
FVV 284	195	F	430	O	R	N
FVV 286	243	F	426	O	NR	N
FVV 290	50	F	387,5	O	NR	N
FVV 295	235	M	452	O	NR	N
FVV 306	240	F	479,5	O	R	N
FVV 312	18	F	387	O	R	N
FVV 325	240	M	536	O	R	N
FVV 326	229	M	466,5	O	NR	AP
FVV 332	3	M	426	O	NR	AP
FVV 338	234	M	477	O	NR	N
FVV 339	60	M	372,5	Rg	NR	N
FVV 343	55	M	443	O	NR	N
FVV 347	50	M	441	O	NR	N
FVV 4-147	8	M	397,5	Rg	R	N
FVV 555	50	F	391	O	R	N
FVV 557	223	M	410	Rg	NR	AP
FVV 558	243	M	434,5	O	NR	N
FVV 560	205	F	358	O	R	N
FVV 562	205	M	435	O	R	N
FVV 564	40	F	376	O	NR	AP
FVV 570	192	M	408,5	O	NR	N
FVV 573	192	M	424	O	NR	N
FVV 588	46	M	411	O	NR	AP
FVV 592	17	M	450,5	O	R	N
FVV 600	40	M	407	O	NR	AP
FVV 9.5 168	55	F	338,5	O	NR	N
FVV MG 031	9	M	427	O	NR	N
FVV MG 032	46	F	336	O	NR	AP
FVV MG 033	12	F	401	O	NR	N
FVV MG 035	25	F	333	Rg	R	N
FVV MG 041	25	M	377	Rg	R	N
FVV MG 059	233	M	389	O	NR	N
FVV MG 063	249	F	370	O	NR	N
FVV MG 066	12	M	419,5	O	NR	N
FVV MG 067	249	M	422	O	NR	N
FVV MG 068	53	M	447	O	NR	N
FVV MG 071	239	M	417	O	NR	N
FVV MG 073	221	F	356	O	NR	N
FVV MG 074	239	F	380	O	NR	AP
FVV MG 076	55	F	375	O	NR	N
FVV MG 9.5 152	208	M	454	O	NR	N
FVV MG 9.5 154	223	F	342	O	NR	AP
FVV MG 9.5 157	252	M	391	O	NR	N
FVV MG 9.5 160	61	M	441	O	NR	N
FVV MG 9.5 161	61	F	355	O	NR	N
FVV MG 9.5 168	55	F	338,5	O	NR	N
FVV MG 9.5 196	27	F	391	O	R	N
FVV MG 9.5 197	27	M	489	O	R	N
FVV MG 9.5 198	46	F	368	O	NR	N

O = Ótimo; Rg = Regular; R = Reprodutor; NR = Não Reprodutor; N = Normal; AP = Arranca penas do corpo.

**Anexo II: Eritrometria dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).**

<b>Identificação</b>	<b>Hm</b> (x 10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	<b>Hb</b> (g/dL)	<b>Ht</b> (%)	<b>VGM</b> (µm <sup>3</sup> ou fL)	<b>HGM</b> (µµg ou pg)	<b>CHGM</b> (g/dL ou %)
CBT 31 10.0 002	2,86	16,2	51	178,32	56,64	31,76
CBT 31 9.5 002	2,63	16,0	47	178,71	60,84	34,04
FVV 262	3,56	-	52	146,07	-	-
FVV 265	2,28	-	37	162,28	-	-
FVV 266	3,04	-	46	151,32	-	-
FVV 275	2,93	-	41	139,93	-	-
FVV 276	2,87	15,6	41	142,86	54,36	38,05
FVV 277	2,61	-	50	191,57	-	-
FVV 281	3,1	-	49	158,06	-	-
FVV 284	2,75	-	37	134,55	-	-
FVV 286	3,48	-	48	137,93	-	-
FVV 290	2,38	-	46	193,28	-	-
FVV 295	2,04	-	43	210,78	-	-
FVV 306	2,85	16,4	43	150,88	57,54	38,14
FVV 312	2,09	-	51	244,02	-	-
FVV 325	2,49	17,2	48	192,77	69,08	35,83
FVV 326	2,73	-	45	164,84	-	-
FVV 332	2,01	-	42	208,96	-	-
FVV 338	2,91	17,4	45	154,64	59,79	38,67
FVV 339	2,49	15,9	43	172,69	63,86	36,98
FVV 343	2,15	-	42	195,35	-	-
FVV 347	1,56	-	43	275,64	-	-
FVV 4-147	2,8	14,9	47	167,86	53,21	31,70
FVV 555	2,16	-	52	240,74	-	-
FVV 557	3,1	-	44	141,94	-	-
FVV 558	2,35	15,5	44	187,23	65,96	35,23
FVV 560	3,69	-	54	146,34	-	-
FVV 562	2,54	16,6	45	177,17	65,35	36,89
FVV 564	2,06	13,7	34	165,05	66,50	40,29
FVV 570	2,73	-	46	168,50	-	-
FVV 573	3,52	-	44	125,00	-	-
FVV 588	2,54	-	44	173,23	-	-
FVV 592	2	-	50	250,00	-	-
FVV 600	2,55	-	45	176,47	-	-
FVV 9.5 168	2,56	-	41	160,16	-	-
FVV MG 031	2,29	-	38	165,94	-	-
FVV MG 032	2,64	18,3	45	170,45	69,32	40,67
FVV MG 033	2,23	16,1	41	183,86	72,20	39,27
FVV MG 035	2,05	15,7	51	248,78	76,59	30,78
FVV MG 041	1,72	15,1	38	220,93	87,79	39,74
FVV MG 059	2,07	-	43	207,73	-	-
FVV MG 063	2,52	-	45	178,57	-	-
FVV MG 066	2,26	-	39	172,57	-	-
FVV MG 067	2,66	18,2	50	187,97	68,42	36,40
FVV MG 068	2,97	-	42	141,41	-	-
FVV MG 071	2,69	-	46	171,00	-	-
FVV MG 073	2,13	-	43	201,88	-	-
FVV MG 074	1,94	-	43	221,65	-	-
FVV MG 076	3	-	49	163,33	-	-
FVV MG 9.5 152	2,48	-	45	181,45	-	-
FVV MG 9.5 154	2,43	-	36	148,15	-	-
FVV MG 9.5 157	1,84	-	41	222,83	-	-
FVV MG 9.5 160	2,55	17,9	52	203,92	70,20	34,42
FVV MG 9.5 161	2,38	16,2	45	189,08	68,07	36,00
FVV MG 9.5 168	2,56	-	41	160,16	-	-
FVV MG 9.5 196	2,44	16,2	41	168,03	66,39	39,51
FVV MG 9.5 197	2,85	16,5	46	161,40	57,89	35,87
FVV MG 9.5 198	2,46	-	50	203,25	-	-

Hm = Contagem global de hemácias, Hb = Hemoglobina total, Ht = Hematócrito, VCM = Volume corpuscular médio, HCM = Hemoglobina corpuscular média, CHCM = Concentração hemoglobina corpuscular média.

**Anexo III: Policromasia nas amostras sanguíneas de papagaios-verdadeiros estudados (N=58).**

Identificação	Rubricitos	Metarubricitos	Eritrócitos policromáticos jovens	Eritrócitos policromáticos avançados	Policromasia total
CBT 31 10.0 002	0	0	6	27	33
CBT 31 9.5 002	0	0	0	15	15
FVV 262	0	0	2	12	14
FVV 265	0	0	13	42	55
FVV 266	0	0	2	22	24
FVV 275	0	0	3	39	42
FVV 276	0	0	0	7	7
FVV 277	0	0	2	11	13
FVV 281	0	0	0	15	15
FVV 284	0	0	1	15	16
FVV 286	0	0	1	9	10
FVV 290	0	0	1	22	23
FVV 295	0	0	3	11	14
FVV 306	0	0	2	11	13
FVV 312	0	2	1	4	7
FVV 325	0	0	3	14	17
FVV 326	0	1	3	14	18
FVV 332	0	0	0	9	9
FVV 338	0	1	6	8	15
FVV 339	0	0	1	17	18
FVV 343	0	0	0	8	8
FVV 347	0	0	1	10	11
FVV 4-147	0	0	2	14	16
FVV 555	0	0	0	6	6
FVV 557	0	0	3	41	44
FVV 558	0	0	1	11	12
FVV 560	0	0	3	25	28
FVV 562	0	0	3	18	21
FVV 564	0	0	0	2	2
FVV 570	0	1	4	17	22
FVV 573	0	0	4	37	41
FVV 588	0	0	2	11	13
FVV 592	0	0	2	19	21
FVV 600	0	0	2	10	12
FVV 9.5 168	0	0	2	17	19
FVV MG 031	0	1	3	13	17
FVV MG 032	0	0	1	13	14
FVV MG 033	0	0	5	15	20
FVV MG 035	2	6	8	18	34
FVV MG 041	0	0	2	11	13
FVV MG 059	0	0	4	25	29
FVV MG 063	0	0	2	25	27
FVV MG 066	0	0	1	18	19
FVV MG 067	0	0	3	13	16
FVV MG 068	0	0	1	18	19
FVV MG 071	0	0	6	21	27
FVV MG 073	0	0	1	6	7
FVV MG 074	0	0	2	4	6
FVV MG 076	0	0	1	4	5
FVV MG 9.5 152	0	0	1	35	36
FVV MG 9.5 154	0	0	0	10	10
FVV MG 9.5 157	0	0	2	23	25
FVV MG 9.5 160	0	0	2	12	14
FVV MG 9.5 161	0	0	0	15	15
FVV MG 9.5 168	0	0	2	17	19
FVV MG 9.5 196	0	0	5	37	42
FVV MG 9.5 197	0	0	4	16	20
FVV MG 9.5 198	0	0	1	9	10
<b>SOMA</b>	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>136</b>	<b>948</b>	<b>1098</b>

Obs. : Contagem absoluta sobre 10 campos de microscopia. Estima-se que cada campo tenha em média 150 eritrócitos.

**Anexo IV:** Trombocitometria e caracterização morfológica de trombócitos, nas amostras sanguíneas dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

<b>Identificação</b>	<b>Trombócitos totais (x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Célula e núcleo alongados</b>	<b>Célula alongada e núcleo arredondado</b>	<b>Célula e núcleo arredondados</b>	<b>Total analisado</b>
CBT 31 10.0 002	39,0	57	19	24	100
CBT 31 9.5 002	12,0	97	3	0	100
FVV 262	11,0	89	10	1	100
FVV 265	26,5	87	11	2	100
FVV 266	25,0	100	0	0	100
FVV 275	6,5	99	1	0	100
FVV 276	15,5	95	4	1	100
FVV 277	15,0	91	3	6	100
FVV 281	15,0	100	0	0	100
FVV 284	18,5	0	0	100	100
FVV 286	18,0	97	2	1	100
FVV 290	25,0	39	34	27	100
FVV 295	6,0	97	1	2	100
FVV 306	10,5	98	2	0	100
FVV 312	23,0	100	0	0	100
FVV 325	9,5	100	0	0	100
FVV 326	12,5	93	5	2	100
FVV 332	16,0	0	0	100	100
FVV 338	18,5	98	2	0	100
FVV 339	15,5	97	3	0	100
FVV 343	14,0	98	1	1	100
FVV 347	30,0	99	1	0	100
FVV 4-147	17,5	52	14	34	100
FVV 555	12,5	99	0	1	100
FVV 557	28,0	100	0	0	100
FVV 558	18,0	100	0	0	100
FVV 560	24,5	100	0	0	100
FVV 562	11,5	98	1	1	100
FVV 564	24,0	0	0	100	100
FVV 570	9,0	100	0	0	100
FVV 573	9,0	76	8	16	100
FVV 588	3,3	90	5	5	100
FVV 592	17,5	75	6	19	100
FVV 600	12,0	69	13	18	100
FVV 9.5 168	18,0	96	2	2	100
FVV MG 031	22,5	100	0	0	100
FVV MG 032	21,0	0	0	100	100
FVV MG 033	19,0	88	12	0	100
FVV MG 035	8,0	94	6	0	100
FVV MG 041	13,5	69	10	21	100
FVV MG 059	15,5	0	0	100	100
FVV MG 063	19,5	52	17	31	100
FVV MG 066	18,0	92	8	0	100
FVV MG 067	17,5	89	11	0	100
FVV MG 068	26,0	32	34	34	100
FVV MG 071	24,0	99	1	0	100
FVV MG 073	15,0	0	0	100	100
FVV MG 074	25,0	100	0	0	100
FVV MG 076	10,0	71	12	17	100
FVV MG 9.5 152	16,5	94	5	1	100
FVV MG 9.5 154	18,0	100	0	0	100
FVV MG 9.5 157	4,0	97	1	2	100
FVV MG 9.5 160	8,0	44	30	26	100
FVV MG 9.5 161	5,4	100	0	0	100
FVV MG 9.5 168	18,0	98	2	0	100
FVV MG 9.5 196	4,5	97	1	2	100
FVV MG 9.5 197	33,0	86	9	5	100
FVV MG 9.5 198	14,0	96	3	1	100

**Anexo V:** Caracterização morfológica dos trombócitos, quanto ao número de vacuolizações, dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

<b>Identificação</b>	<b>sem vacúolo</b>	<b>1 vacúolo</b>	<b>2 vacúolos</b>	<b>3 vacúolos</b>	<b>4 vacúolos</b>	<b>Total</b>
CBT 31 10.0 002	10	9	0	0	0	19
CBT 31 9.5 002	8	2	3	2	0	15
FVV 262	20	0	0	0	0	20
FVV 265	16	3	1	0	0	20
FVV 266	16	2	2	0	0	20
FVV 275	18	1	1	0	0	20
FVV 276	14	1	5	0	0	20
FVV 277	11	8	0	1	0	20
FVV 281	15	4	1	0	0	20
FVV 284	0	0	0	0	0	0
FVV 286	9	9	2	0	0	20
FVV 290	12	8	2	0	0	22
FVV 295	11	3	0	0	0	14
FVV 306	12	6	2	0	0	20
FVV 312	11	7	3	0	0	21
FVV 325	14	2	3	1	0	20
FVV 326	16	2	2	0	0	20
FVV 332	0	0	0	0	0	0
FVV 338	9	4	5	2	0	20
FVV 339	13	5	1	0	0	19
FVV 343	12	4	3	1	0	20
FVV 347	7	5	6	0	0	18
FVV 4-147	8	6	5	1	0	20
FVV 555	13	4	3	0	0	20
FVV 557	6	6	1	0	0	13
FVV 558	8	9	2	0	0	19
FVV 560	8	6	4	2	0	20
FVV 562	7	11	1	1	0	20
FVV 564	0	0	0	0	0	0
FVV 570	10	9	1	0	0	20
FVV 573	17	3	0	0	0	20
FVV 588	7	5	7	1	0	20
FVV 592	18	1	1	0	0	20
FVV 600	14	4	1	0	0	19
FVV 9.5 168	13	6	0	0	0	19
FVV MG 031	16	4	0	0	0	20
FVV MG 032	0	0	0	0	0	0
FVV MG 033	4	5	7	4	0	20
FVV MG 035	18	2	0	0	0	20
FVV MG 041	7	3	6	3	1	20
FVV MG 059	11	7	1	1	0	20
FVV MG 063	18	2	0	0	0	20
FVV MG 066	16	3	1	0	0	20
FVV MG 067	14	1	1	0	0	16
FVV MG 068	8	5	4	3	0	20
FVV MG 071	8	6	4	2	0	20
FVV MG 073	0	0	0	0	0	0
FVV MG 074	8	3	4	1	0	16
FVV MG 076	14	4	2	0	0	20
FVV MG 9.5 152	14	3	2	1	0	20
FVV MG 9.5 154	12	5	3	0	0	20
FVV MG 9.5 157	5	16	3	0	0	24
FVV MG 9.5 160	9	6	4	1	0	20
FVV MG 9.5 161	8	4	7	1	0	20
FVV MG 9.5 168	12	7	1	0	0	20
FVV MG 9.5 196	13	8	1	0	0	22
FVV MG 9.5 197	17	1	1	2	0	21
FVV MG 9.5 198	14	5	0	0	0	19

**Anexo VI: Leucometria dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).**

<b>Identificação</b>	<b>Leucócitos (x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Heterófilo (x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Linfócitos (x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Monócitos (x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Basófilos (x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Eosinófilos (x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>
CBT 31 10.0 002	13,50	8,37	4,725	0,27	0,135	0
CBT 31 9.5 002	10,00	5,5	3,9	0,2	0,4	0
FVV 262	5,00	2,1	2,8	0,1	0	0
FVV 265	13,00	6,76	5,98	0,13	0,13	0
FVV 266	4,00	1,64	2,2	0,08	0,08	0
FVV 275	4,50	1,53	2,88	0,045	0	0,045
FVV 276	8,50	4,42	3,485	0,425	0,17	0
FVV 277	7,50	5,4	1,95	0,15	0	0
FVV 281	4,00	2,4	1,56	0,04	0	0
FVV 284	5,50	3,025	2,42	0,055	0	0
FVV 286	7,00	3,71	2,87	0,28	0,14	0
FVV 290	8,00	2,48	5,2	0,24	0,08	0
FVV 295	3,00	1,44	1,47	0,03	0,06	0
FVV 306	4,00	1,32	2,64	0,04	0	0
FVV 312	9,50	4,275	4,655	0,285	0,095	0,19
FVV 325	3,00	0,57	2,37	0,06	0	0
FVV 326	8,50	3,57	5,355	0,425	0,17	0
FVV 332	6,50	3,315	2,86	0,26	0	0,065
FVV 338	18,50	4,255	13,875	0,185	0,185	0
FVV 339	4,00	1,88	2,04	0,04	0,04	0
FVV 343	9,00	3,96	4,77	0,18	0,09	0
FVV 347	3,00	1,59	1,38	0,03	0	0
FVV 4-147	5,00	2,55	2,4	0,05	0	0
FVV 555	3,50	1,365	1,96	0,07	0	0,105
FVV 557	8,50	5,61	2,55	0,255	0,085	0
FVV 558	6,50	3,51	2,795	0,065	0,13	0
FVV 560	17,00	10,88	5,1	0,85	0,17	0
FVV 562	11,00	8,03	2,42	0,22	0,33	0
FVV 564	4,00	2,24	1,44	0,24	0,04	0,04
FVV 570	6,00	4,44	1,38	0,06	0	0,12
FVV 573	8,00	5,76	2	0,24	0	0
FVV 588	2,00	0,58	1,36	0,06	0	0
FVV 592	7,00	2,94	3,78	0,21	0,07	0
FVV 600	5,50	4,015	1,265	0	0,055	0,165
FVV 9.5 168	7,00	3,36	3,36	0,07	0,07	0,07
FVV MG 031	8,50	4,59	4,59	0,085	0	0,085
FVV MG 032	4,50	2,295	2,115	0,045	0,045	0
FVV MG 033	6,00	2,76	3,06	0,06	0,12	0
FVV MG 035	3,50	1,365	1,96	0,07	0,105	0
FVV MG 041	1,50	1,11	0,36	0	0,015	0,015
FVV MG 059	8,50	3,06	4,845	0,425	0,17	0
FVV MG 063	7,50	4,2	3,15	0,075	0,075	0
FVV MG 066	3,00	1,56	1,35	0,06	0,03	0
FVV MG 067	8,00	5,92	1,76	0,16	0,16	0
FVV MG 068	7,50	3,075	3,9	0,45	0,075	0
FVV MG 071	5,50	1,43	4,07	0	0	0
FVV MG 073	10,00	5,6	4,4	0	0	0
FVV MG 074	25,00	5,25	18,75	0,5	0,25	0,25
FVV MG 076	8,50	4,93	3,06	0,255	0,255	0
FVV MG 9.5 152	7,00	3,08	3,78	0,14	0	0
FVV MG 9.5 154	8,00	2,4	5,12	0,32	0,16	0
FVV MG 9.5 157	3,50	1,645	1,715	0,105	0,035	0
FVV MG 9.5 160	5,00	2,2	2,7	0,1	0	0
FVV MG 9.5 161	2,40	0,984	1,32	0,048	0,048	0
FVV MG 9.5 168	7,00	3,36	3,36	0,14	0,14	0
FVV MG 9.5 196	7,50	3,15	4,05	0	0,3	0
FVV MG 9.5 197	6,50	3,705	2,015	0,13	0	0
FVV MG 9.5 198	1,50	0,75	0,675	0,045	0,03	0

**Anexo VII:** Granuloblastometria nas amostras de sangue periférico dos papagaios-verdadeiros estudados(N=58).

<b>Identificação</b>	<b>Prómielócitos totais</b>	<b>Mesomielócitos totais</b>	<b>Total de Granuloblastos</b>
CBT 31 10.0 002	0	0	0
CBT 31 9.5 002	0	0	0
FVV 262	0	0	0
FVV 265	0	0	0
FVV 266	1	1	2
FVV 275	0	0	0
FVV 276	0	0	0
FVV 277	0	0	0
FVV 281	0	0	0
FVV 284	1	0	1
FVV 286	0	0	0
FVV 290	0	0	0
FVV 295	0	1	1
FVV 306	1	0	1
FVV 312	0	0	0
FVV 325	0	0	0
FVV 326	0	0	0
FVV 332	0	1	1
FVV 338	0	0	0
FVV 339	0	0	0
FVV 343	0	0	0
FVV 347	0	0	0
FVV 4-147	0	0	0
FVV 555	0	0	0
FVV 557	0	0	0
FVV 558	0	0	0
FVV 560	0	0	0
FVV 562	0	0	0
FVV 564	0	0	0
FVV 570	0	0	0
FVV 573	0	0	0
FVV 588	0	0	0
FVV 592	0	1	1
FVV 600	0	0	0
FVV 9.5 168	0	1	1
FVV MG 031	1	0	1
FVV MG 032	0	0	0
FVV MG 033	0	0	0
FVV MG 035	0	0	0
FVV MG 041	0	0	0
FVV MG 059	0	0	0
FVV MG 063	0	0	0
FVV MG 066	1	1	2
FVV MG 067	0	0	0
FVV MG 068	1	0	1
FVV MG 071	0	0	0
FVV MG 073	0	0	0
FVV MG 074	0	0	0
FVV MG 076	0	0	0
FVV MG 9.5 152	0	0	0
FVV MG 9.5 154	0	0	0
FVV MG 9.5 157	0	0	0
FVV MG 9.5 160	0	0	0
FVV MG 9.5 161	0	0	0
FVV MG 9.5 168	0	1	1
FVV MG 9.5 196	0	0	0
FVV MG 9.5 197	0	0	0
FVV MG 9.5 198	0	0	0

Obs. : Contagem absoluta sobre 100 campos de microscopia. Estima-se que cada campo tenha uma média de 150 eritrócitos.

**Anexo VIII:** Caracterização dos heterófilos, quanto à morfologia nuclear, dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

<b>Identificação</b>	<b>Sem lobulação</b>	<b>Bilobulado</b>	<b>Trilobulado</b>	<b>Quadrilobulado</b>	<b>Total</b>
CBT 31 10.0 002	1	12	7	0	20
CBT 31 9.5 002	2	14	3	1	20
FVV 262	2	18	0	0	20
FVV 265	4	14	2	0	20
FVV 266	6	13	1	0	20
FVV 275	2	16	2	0	20
FVV 276	4	15	1	0	20
FVV 277	2	16	2	0	20
FVV 281	0	17	3	0	20
FVV 284	5	15	0	0	20
FVV 286	2	16	2	0	20
FVV 290	3	16	1	0	20
FVV 295	1	19	0	0	20
FVV 306	3	17	0	0	20
FVV 312	0	17	3	0	20
FVV 325	1	12	3	0	16
FVV 326	1	18	1	0	20
FVV 332	1	16	3	0	20
FVV 338	0	17	2	0	19
FVV 339	0	18	2	0	20
FVV 343	4	15	1	0	20
FVV 347	1	12	0	0	13
FVV 4-147	2	16	1	0	19
FVV 555	2	17	1	0	20
FVV 557	0	16	4	0	20
FVV 558	1	14	5	0	20
FVV 560	5	13	2	0	20
FVV 562	4	12	4	0	20
FVV 564	2	18	0	0	20
FVV 570	4	16	0	0	20
FVV 573	19	1	0	0	20
FVV 588	1	8	1	0	10
FVV 592	3	11	6	0	20
FVV 600	11	6	0	0	17
FVV 9.5 168	1	19	0	0	20
FVV MG 031	3	17	0	0	20
FVV MG 032	6	23	0	0	29
FVV MG 033	4	15	1	0	20
FVV MG 035	7	33	0	0	40
FVV MG 041	0	17	3	0	20
FVV MG 059	1	18	2	0	21
FVV MG 063	1	18	1	0	20
FVV MG 066	4	15	1	0	20
FVV MG 067	1	18	1	0	20
FVV MG 068	2	14	2	0	18
FVV MG 071	2	17	1	0	20
FVV MG 073	3	17	0	0	20
FVV MG 074	2	17	1	0	20
FVV MG 076	2	17	1	0	20
FVV MG 9.5 152	1	16	3	0	20
FVV MG 9.5 154	1	15	4	0	20
FVV MG 9.5 157	1	17	2	0	20
FVV MG 9.5 160	1	12	5	2	20
FVV MG 9.5 161	2	18	0	0	20
FVV MG 9.5 168	1	19	0	0	20
FVV MG 9.5 196	7	28	7	0	42
FVV MG 9.5 197	2	30	24	0	56
FVV MG 9.5 198	2	48	0	0	50

**Anexo IX:** Caracterização dos eosinófilos, quanto à morfologia nuclear, dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

<b>Identificação</b>	<b>Sem lobulação</b>	<b>Bilobulado</b>	<b>Trilobulado</b>	<b>Total</b>
FVV 275	1	0	0	1
FVV 312	0	2	0	2
FVV 332	1	0	0	1
FVV 555	0	2	1	3
FVV 564	0	1	0	1
FVV 570	0	2	0	2
FVV 600	3	0	0	3
FVV MG 031	0	1	0	1
FVV MG 041	0	1	0	1
FVV MG 074	1	0	0	1

Obs.: Só estão expressas na tabela, os dados das aves nas quais se visualizou eosinófilos.

**Anexo X:** Caracterização dos basófilos, quanto à morfologia nuclear, dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

<b>Identificação</b>	<b>Sem lobulação</b>	<b>Bilobulado</b>	<b>Trilobulado</b>	<b>Total</b>
CBT 31 10.0 002	0	1	0	1
CBT 31 9.5 002	3	0	1	4
FVV 265	1	0	0	1
FVV 266	2	0	0	2
FVV 276	2	0	0	2
FVV 286	1	1	0	2
FVV 290	1	0	0	1
FVV 295	0	2	0	2
FVV 312	1	0	0	1
FVV 326	1	1	0	2
FVV 338	0	1	0	1
FVV 339	1	0	0	1
FVV 343	0	1	0	1
FVV 557	1	0	0	1
FVV 558	1	1	0	2
FVV 560	0	1	0	1
FVV 562	0	3	0	3
FVV 564	1	0	0	1
FVV 592	1	0	0	1
FVV 600	1	0	0	1
FVV 9.5 168	0	1	0	1
FVV MG 032	0	1	0	1
FVV MG 033	1	1	0	2
FVV MG 035	3	0	0	3
FVV MG 041	1	0	0	1
FVV MG 059	0	2	0	2
FVV MG 063	0	1	0	1
FVV MG 066	0	1	0	1
FVV MG 067	1	1	0	2
FVV MG 068	0	1	0	1
FVV MG 074	0	1	0	1
FVV MG 076	2	1	0	3
FVV MG 9.5 154	0	2	0	2
FVV MG 9.5 157	0	1	0	1
FVV MG 9.5 161	2	0	0	2
FVV MG 9.5 168	1	1	0	2
FVV MG 9.5 196	2	2	0	4
FVV MG 9.5 198	2	0	0	2

Obs.: Só estão expressas na tabela, os dados das aves nas quais se visualizou basófilos.

**Anexo XI:** Caracterização morfológica de linfócitos, dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

<b>Identificação</b>	<b>Linfócitos Pequenos (linfócitos típicos)</b>	<b>Linfócitos Médios</b>	<b>Linfócitos com aspecto amebóide</b>	<b>Linfócitos polimórficos</b>	<b>Total pesquisado</b>
CBT 31 10.0 002	22	8	3	2	30
CBT 31 9.5 002	11	0	2	0	11
FVV 262	51	5	0	0	56
FVV 265	31	6	0	0	37
FVV 266	32	7	0	0	39
FVV 275	59	4	0	0	63
FVV 276	27	7	0	0	34
FVV 277	10	2	1	0	12
FVV 281	8	5	0	0	13
FVV 284	20	0	0	0	20
FVV 286	37	7	0	0	44
FVV 290	24	9	0	0	33
FVV 295	29	1	1	0	30
FVV 306	25	3	4	0	28
FVV 312	41	10	7	0	51
FVV 325	19	3	0	0	22
FVV 326	20	3	2	0	23
FVV 332	12	1	0	0	13
FVV 338	70	5	9	6	75
FVV 339	15	6	0	0	21
FVV 343	19	3	0	0	22
FVV 347	10	1	0	0	11
FVV 4-147	40	8	3	0	48
FVV 555	31	5	2	0	36
FVV 557	15	3	2	0	18
FVV 558	36	7	0	0	43
FVV 560	14	11	1	3	25
FVV 562	4	1	0	0	5
FVV 564	36	0	0	0	36
FVV 570	9	2	0	0	11
FVV 573	34	3	1	0	37
FVV 588	20	11	0	3	31
FVV 592	27	6	0	0	33
FVV 600	10	0	0	0	10
FVV 9.5 168	29	1	5	1	30
FVV MG 031	24	6	0	3	30
FVV MG 032	48	8	0	0	56
FVV MG 033	46	5	0	0	51
FVV MG 035	58	5	3	1	63
FVV MG 041	5	1	0	0	6
FVV MG 059	45	7	6	0	52
FVV MG 063	32	8	5	3	40
FVV MG 066	33	10	0	0	43
FVV MG 067	16	4	1	1	20
FVV MG 068	12	9	0	0	21
FVV MG 071	73	1	0	0	74
FVV MG 073	10	7	1	0	17
FVV MG 074	34	19	3	0	53
FVV MG 076	27	9	0	0	36
FVV MG 9.5 152	50	3	0	0	53
FVV MG 9.5 154	68	8	0	0	76
FVV MG 9.5 157	16	2	1	0	18
FVV MG 9.5 160	18	7	0	0	25
FVV MG 9.5 161	23	3	2	0	26
FVV MG 9.5 168	29	1	5	1	30
FVV MG 9.5 196	46	11	0	0	57
FVV MG 9.5 197	10	21	1	9	31
FVV MG 9.5 198	27	18	5	0	45

**Anexo XII:** Hemoparasitemia nos papagaios-verdadeiros estudados (N=58).

<b>Identificação da aves</b>	<b>Parasitemia absoluta</b>	<b>Parasitemia relativa</b>
FVV 265	4	0,013%
FVV 277	9	0,030%
FVV 295	7	0,023%
FVV 306	3	0,010%
FVV 325	3	0,010%
FVV 338	4	0,013%
FVV 557	39	0,130%
FVV 558	8	0,027%
FVV MG 033	5	0,017%
FVV MG 035	8	0,027%
FVV MG 059	8	0,027%
FVV MG 063	5	0,017%
FVV MG 071	5	0,017%
FVV MG 9.5 152	14	0,047%
FVV MG 9.5 157	8	0,027%
FVV MG 9.5 196	21	0,070%
FVV MG 9.5 197	5	0,017%
<b>17 aves parasitadas</b>	<b>9,18</b>	<b>0,031%</b>
SOMA	MÉDIA	MÉDIA
<b>29,31% do total</b>	<b>8,88</b>	<b>0,030%</b>
	DESVIO PADRÃO	Desvio Padrão
	<b>3</b>	<b>0,010%</b>
	MÍNIMO	MÍNIMO
	<b>39</b>	<b>0,130%</b>
	MÁXIMO	MÁXIMO

Parasitemia absoluta = n° de eritrócitos parasitados em 30.000 eritrócitos observados.

**Anexo XIII:** Comparação entre sexos, das variáveis hematológicas dos papagaios-verdadeiros estudados (N=58) pelo Teste T, fixando-se o índice de confiança em 95%.

<i>Variável</i>	<i>Machos (n=34)</i>		<i>Fêmeas (n=24)</i>		<i>Valor de P</i>
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
Contagem global de hemácias.	2,56	0,47	2,52	0,43	0,774
Hemoglobina total.	16,49	1,10	16,02	1,18	0,375
Hematócrito total	44,97	3,71	44,21	5,37	0,551
Volume Corpuscular Médio	180,75	31,76	178,92	33,34	0,834
Hemoglobina Corpuscular Média	65,29	9,29	65,76	7,07	0,900
Concentração de hemoglobina corpuscular média	35,77	2,49	37,42	3,26	0,234
Contagem total de eritrócitos imaturos	20,24	9,44	17,1	12,7	0,309
Contagem total de trombócitos	16,41	8,25	16,89	6,31	0,801
Contagem total de Leucócitos	6,41	3,38	7,85	5,01	0,229
Contagem total granuloblastos	0,265	0,567	0,167	0,381	0,434
Contagem total de Heterófilos	3,26	1,93	3,60	2,23	0,550
Contagem total de Eosinófilos	0,0146	0,0382	0,0273	0,0654	0,398
Contagem total de Basófilos	0,0563	0,0772	0,118	0,103	0,018
Contagem total de Monócitos	0,139	0,122	0,185	0,196	0,309
Contagem total de Linfócitos	2,98	2,29	3,92	3,44	0,250
Contagem total de linfócitos pequenos	25,7	18,2	32,3	13,9	0,124
<b>População de linfócitos atípicos</b>	0,91	1,91	1,88	2,21	0,091

Obs. : Para o índice de confiança de 95%, valores de  $P > 0,05$  não sustentam diferença estatística significante.

**Anexo XIV:** Comparação entre aves parasitadas (n=17) e não parasitadas (n=41), das variáveis hematológicas pelo Teste T, fixando-se o índice de confiança em 95.

Variável	Média ± Desvio Padrão		Valor de P
Hemoparasitemia entre machos e fêmeas	10,0 ± 10,1	7,67 ± 6,74	0,578
Varição de peso (g)	423,8 ± 54,5	404,8 ± 43,1	0,213
Função reprodutiva * <sup>A</sup>	0,353 ± 0,493	0,220 ± 0,419	0,336
Contagem global hemácias (x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	2,459 ± 0,351	2,580 ± 0,484	0,295
Hemoglobina total (g/dL)	16,375 ± 0,663	16,22 ± 1,38	0,737
Hematócrito total (%)	44,80 ± 4,83	44,29 ± 3,44	0,652
Volume Corpuscular Médio(μm <sup>3</sup> ou fL)	183,3 ± 27,7	178,6 ± 34,0	0,591
Hemoglobina Corpuscular Média (μμg ou pg)	65,68 ± 6,92	65,38 ± 9,18	0,935
Conc. de Hemoglobina Corpuscular Média (g/dL ou %)	36,66 ± 2,91	36,41 ± 3,03	0,855
Contagem de metarubríctos* <sup>B</sup>	0,53 ± 1,94	0,12 ± 0,40	0,403
Contagem de erit. policromáticos jovens * <sup>B</sup>	4,12 ± 3,00	1,61 ± 1,34	0,004
Cont. de erit. policromáticos avançados * <sup>B</sup>	21,4 ± 11,2	14,24 ± 7,89	0,025
Contagem de trombócitos totais (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	16,24 ± 8,49	16,76 ± 7,09	0,824
Contagem de leucócitos totais (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	7,03 ± 3,89	7,00 ± 4,30	0,978
Contagem total de heterófilos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	3,13 ± 1,74	3,51 ± 2,17	0,490
Contagem de heterófilos unilobulados * <sup>C</sup>	2,24 ± 2,14	2,88 ± 3,31	0,385
Contagem de heterófilos bilobulados* <sup>C</sup>	18,65 ± 5,89	15,90 ± 6,39	0,125
Contagem de heterófilos trilobulados* <sup>C</sup>	3,47 ± 5,60	1,54 ± 1,75	0,181
Contagem de linfócitos totais (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	3,66 ± 2,89	3,24 ± 2,84	0,618
Contagem de linfócitos médios * <sup>D</sup>	5,47 ± 4,82	5,71 ± 4,46	0,863
Contagem de linfócitos amebóides * <sup>D</sup>	1,94 ± 2,63	1,05 ± 1,77	0,213
Contagem de linfócitos polimórficos * <sup>D</sup>	1,12 ± 2,57	0,341 ± 0,855	0,240
Contagem total de monócitos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,113 ± 0,104	0,176 ± 0,172	0,092
Contagem total de basófilos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,082 ± 0,085	0,081 ± 0,097	0,984
Contagem total de eosinófilos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,000 ± 0,00	0,028 ± 0,06	0,005

Obs. : Para o índice de confiança de 95%, valores de P>0,05 não sustentam diferença estatística significativa.

\*<sup>A</sup> – Para fins de cálculo foram atribuídos valores quantitativos de zero para aves não reprodutoras e um para aves reprodutoras.

\*<sup>B</sup> – Média dos valores obtidos no estudo de 1500 eritrócitos por ave.

\*<sup>C</sup> – Média dos valores obtidos no estudo de 22 heterófilos por ave.

\*<sup>D</sup> – Média dos valores obtidos no estudo de 34 linfócitos por ave.

**Anexo XV:** Valores hematológicos de referência para papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva* – Psittacidae) mantidos em cativeiro (N=58).

<b>Parâmetro</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
Hm – Contagem global de hemácias (x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	2,54	0,45
Hb – Hemoglobina total (g/dL)	16,28	1,13
Ht – Hematócrito (%)	44,66	4,45
VCM – Volume corpuscular médio (µm <sup>3</sup> ou fL)	179,99	32,15
HCM – Hemoglobina corpuscular média (µg ou pg)	65,50	8,15
CHCM – Concentração hemoglobina corpuscular média (g/dL ou %)	36,51	2,90
Eritrócitos imaturos totais (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	19,13	10,45
Rubricito (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,00	0,00
Metarubricito (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,15	0,004
Eritrócito policromático jovem (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	1,93	0,16
Eritrócito policromático avançado (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	17,05	8,42
Trombócitos totais (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	16,61	7,45
Citomorfismo: célula e núcleo alongados (%)	79,03	31,81
Citomorfismo: célula alongada e núcleo arredondado (%)	5,40	8,06
Citomorfismo: célula e núcleo arredondados (%)	15,57	30,49
Citomorfismo: sem vacúolos citoplasmáticos (%)	60,71	5,02
Citomorfismo: um vacúolo citoplasmático (%)	24,61	3,15
Citomorfismo: dois vacúolos citoplasmáticos (%)	11,58	2,03
Citomorfismo: três vacúolos citoplasmáticos (%)	2,99	0,92
Citomorfismo: quatro vacúolos citoplasmáticos (%)	0,11	0,13
Leucócitos totais (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	7,01	4,15
Heterófilos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	3,40	2,05
Citomorfismo: sem lobulações nucleares (%)	12,48	111,91
Citomorfismo: duas lobulações nucleares (%)	77,52	37,84
Citomorfismo: três lobulações nucleares (%)	9,76	162,92
Citomorfismo: quatro lobulações nucleares (%)	0,24	563,65
Linfócitos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	3,37	2,83
Linfócitos pequenos (típicos) (%)	83,43	58,87
Linfócitos médios (%)	16,57	80,46
Linfócitos com aspecto amebóide (%)	2,98	158,70
Linfócitos polimórficos (%)	2,31	273,51
Monócitos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,158	0,157
Basófilos – Machos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,06	0,08
Basófilos – Fêmeas (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,12	0,10
Citomorfismo: sem lobulações nucleares (%)	52,38	143,94
Citomorfismo: duas lobulações nucleares (%)	46,03	141,42
Citomorfismo: três lobulações nucleares (%)	1,59	763,37
Eosinófilos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,028	0,06
Citomorfismo: sem lobulações nucleares (%)	31,25	499,19
Citomorfismo: duas lobulações nucleares (%)	62,50	290,31
Citomorfismo: três lobulações nucleares (%)	6,25	763,37
Granuloblastos totais (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,038	0,084
Promielócitos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,017	0,024
Mesomielócitos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,020	0,030