

Importância da avaliação morfológica de neutrófilos como marcadores de infecção sistêmica em cães. Relato de dois casos*

Elena Michel D'Andrea Bastos¹, Paulo Daniel Sant'Anna Leal²⁺
e Carlos Wilson Gomes Lopes³

ABSTRACT. Bastos E.M.D'A., Leal P.D.S. & Lopes C.W.G. [Morphological evaluation of the importance of neutrophils as systemic markers of infection in dogs. Report of two cases.] Importância da avaliação morfológica de neutrófilos como marcadores de infecção sistêmica em cães. Relato de dois casos. Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(2):195-202, 2016. Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária, Av. das Américas, 3939, Bloco 2, Loja I., Barra da Tijuca, RJ 22631-003, Brasil. E-mail: ctivet@ctiveterinario.com.br

Infection and inflammation produce an acute response, where accelerating the neutropoiesis and stimulating the release of neutrophil with morphological changes into the bloodstream, are called toxic neutrophils. These changes are identified in the blood smear, which may present cytoplasmic basophilia and/or vacuolation, Döhle bodies, toxic granulation and giant neutrophils. This acute response can trigger a systemic inflammatory process, a clinical manifestation of the body to a serious stimulus, which is a potentially fatal condition where an early appropriate diagnosis is essential for the survival of the animal. In most cases, these diseases occur interconnected with periodontal disease, whereas 80% of dogs have this chronic infectious process which may contribute to the development and/or exacerbation of local and systemic diseases. This work aimed to present the importance of the morphological evaluation of leukocytes as infection markers in nulliparous female dogs using pyometra and periodontal disease, by comparing serial blood counts with an interval of approximately 6 hours between them. We concluded that the study of the toxic neutrophils in serial blood counts can be useful in monitoring systemic infections.

KEY WORDS. Leukocyte, pyometra, toxic neutrophils, SIRS, periodontal disease.

RESUMO. Infecções e inflamações produzem uma resposta aguda acarretando na aceleração da neutropoese e estimulando a liberação dos neutrófilos com alterações morfológicas para a corrente sanguínea, são os chamados neutrófilos tóxicos. Essas alterações são identificadas nos estirados sanguíneos, podendo apresentar basofilia citoplasmática, vacuolização citoplasmática, corpúsculos de Döhle, granulação tóxica e os neutrófilos gigantes.

Essa resposta aguda pode desencadear um processo inflamatório sistêmico, manifestação clínica do organismo a um estímulo grave, que possui uma condição potencialmente fatal, onde o diagnóstico precoce e adequado é fundamental para a sobrevivência do animal. Na maioria dos casos estas doenças ocorrem de forma interligada com a doença periodontal, visto que 80% dos cães apresentam este processo infeccioso crônico, podendo contri-

* Recebido em 30 de dezembro de 2015.

Aceito para publicação em 15 de janeiro de 2016.

¹ Médica-veterinária. Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária, Av. das Américas, 3939, Bloco 2, Loja I, Barra da Tijuca, RJ 22631-003. E-mail: ctivet@ctiveterinario.com.br

² Médico-veterinário, DSc, Programa de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias, Anexo 1, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), *Campus* Seropédica, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. +Autor para correspondência, E-mail: pauloleal@ctiveterinario.com.br - em programa de Pós Doutorado.

³ Médico-veterinário, PhD, LD. Departamento em Parasitologia Animal, Anexo 1, IV, UFRRJ, *Campus* Seropédica, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: lopescw@ufrj.br - bolsista CNPq.

buir para o desenvolvimento e/ou agravamento de patologias locais e sistêmicas. Neste trabalho objetivou-se apresentar a importância da avaliação morfológica de leucócitos como marcadores de infecção em cadelas nulíparas com piometra e doença periodontal, através da comparação de hemogramas seriados, com intervalo de aproximadamente 6 horas entre eles. Concluímos que o estudo dos neutrófilos tóxicos em hemogramas seriados podem ser úteis na monitoração de infecções sistêmicas.

PALAVRAS-CHAVE. Leucócitos, piometra, neutrófilos tóxicos, SIRS, doença periodontal.

INTRODUÇÃO

As infecções e inflamações produzem uma resposta aguda, que acelera o processo de neutropoese, estimulando a liberação dos neutrófilos tóxicos (Garland 2011, Lambert et al. 2016), devido ao acúmulo de peroxidase antes da maturação na medula óssea, apresentando com isso alterações na quantidade e na morfologia, visto que em animais sadios essas alterações não são visíveis devido a presença de poucos grânulos no citoplasma dessas células (Garland 2011), observadas no estudo na citoscopia, que permitem diagnosticar e quantificar a gravidade dos processos infecciosos e inflamatórios. As células sanguíneas são formadas através da hematopoese, processo que corresponde à formação e maturação das células, fazendo com que cada uma apresente a quantidade, formato e cor específica para o bom funcionamento do organismo. São produzidos exclusivamente na medula óssea dos animais adultos sadios, podendo haver produção em locais extramedulares, principalmente no baço, em animais jovens e em adultos nos casos de necessidade (Thrall 2007). São os leucócitos mais numerosos, sendo a principal população celular na resposta inflamatória aguda (Schalm 1964, Coles 1984, Abbas et al. 2000, Oliveira et al. 2002), que devido a ação das substâncias quimiotáticas, produzidas por mediadores celulares ou moleculares, migram aos locais adjacentes ao sítio de inflamação, onde são capazes de desenvolver atividades fagocíticas e microbicida (Rebar et al. 2003). Os neutrófilos possuem uma produção ordenada, formada por uma população de células proliferativas, capazes de fazer divisão celular (mieloblasto, progranulócito e mielócito) e uma população de células de maturação e estocagem (metamielócito, neutrófilo bastonete e neutrófilo segmentado), onde irão completar a sua maturação morfológica (Abbas et al. 2000).

A quantidade de neutrófilos no sangue é con-

trolada por um complexo de citocinas e fatores de crescimento, podendo variar com o estado de saúde do animal, já que a sua liberação da medula óssea pode ser acelerada por ação da interleucina 1 (IL-1), pelo fator de necrose tumoral (TNF) e pelo fator indutor de leucocitose (FIL). E após o desfecho da inflamação, a quantidade de neutrófilos no sangue retorna ao normal (Rebar et al. 2003, Thrall 2007).

O tempo de circulação, que corresponde ao período entre liberação do neutrófilo para o sangue e sua saída aos tecidos, em condições normais é de seis a dez horas, podendo diminuir consideravelmente quando os neutrófilos forem consumidos de forma mais intensa. Entretanto, esse tempo de circulação dos neutrófilos na corrente sanguínea, pode ser diminuído, acelerando o processo de apoptose pela influência de estímulos patológicos (Triconi et al. 2011). Devido à rápida renovação dos neutrófilos, podem ocorrer alterações rápidas e marcantes na contagem celular, que podem ser verificados em hemogramas seriados obtidos em intervalos de poucas horas (Thrall 2007). Infecções, inflamações e/ou estresse irão afetar o funcionamento normal da hematopoese, gerando alterações possíveis de serem identificadas em um hemograma, exame utilizado na rotina médica e como exames complementares, oferecendo ao médico veterinário condições para avaliar o estado de saúde do animal, confirmação de diagnóstico e estabelecimento de prognósticos. Este exame é importante por ser constituído de informações quantitativas e qualitativas, sendo possível realizar a contagem individual, análise da morfologia das células em um estirado sanguíneo e concentrado de plaquetas e leucócitos, principalmente nas infecções graves em cães, como a piometra e a parvovirose, que podem levar à sepse, condição inflamatória sistêmica a partir de um foco infeccioso, definida como a Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica, causadora de disfunções orgânicas que levam ao óbito a maioria dos animais acometidos. Isso ocorre pela falta de diagnóstico precoce, que pode ser explicado pela ausência de sinais clínicos e laboratoriais específicos, o que dificulta a determinação do tratamento adequado (Schuetz et al. 2007, Pierrakos & Vicent 2010, Jitpean et al. 2014). Além disso, muitas infecções sistêmicas estão relacionadas com a doença periodontal, doença que acomete entorno de 80% dos cães, e quando não tratada, torna-se um foco infeccioso e inflamatório persistente, podendo agravar o quadro do paciente (Pavlica et al. 2008, Trapp et al. 2010, Niemiec 2012).

A observação das “alterações tóxicas”, termo utilizado para as alterações morfológicas associada com infecções bacterianas graves ou outras desordens inflamatórias (Gosset et al. 1984), são decorrentes do estímulo inflamatório na medula óssea, onde com isso a demanda de leucócitos ultrapassa a capacidade de armazenamento e as células com um maior conteúdo de organelas, caracterizada pela basofilia citoplasmática são liberados na circulação (Thrall 2007). Essas avaliações das alterações morfológicas dos neutrófilos, são importantes para observar o prognóstico, visto que, na maioria das vezes, essas alterações antecedem manifestações clínicas, possibilitando um diagnóstico precoce de doenças graves (Schepper et al. 1987, Wheathon et al. 1989, Sevelius et al. 1990, Khan et al. 2008, Lambert et al. 2016).

Os efeitos tóxicos durante a granulopoiese são refletidos como basofilia citoplasmática, presença de grânulos tóxicos, corpúsculo de Döhle, núcleo hipersegmentado e a produção de neutrófilos gigantes e bizarros (Itamar et al. 2005, Lambert et al. 2016). São liberados antes da maturação na medula óssea, devido ao estímulo da neutropoese em uma infecção grave, onde a quantidade e o tipo de toxicidade estão relacionados com a severidade da doença (Aroch et al. 2005, Lambert et al. 2016). A análise destes parâmetros que auxilia na determinação do prognóstico, sendo as quantidades de leve a moderada, associadas com um prognóstico melhor; e as quantidades mais altas com os casos mais graves e fatais (Aroch et al. 2005, Segev et al. 2006).

O presente trabalho tem como objetivo relatar a importância da avaliação de neutrófilos tóxicos, como marcadores de infecção e inflamação, em cadelas com piometra, tornando possível o diagnóstico precoce da sepse e a determinação do prognóstico, permitindo assim ações efetivas para o tratamento adequado, evitando as disfunções orgânicas e a perda da qualidade de vida dos animais.

HISTÓRICO

Duas cadelas nulíparas foram atendidas no Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária (CTI Vet), localizado na Barra da Tijuca, município do Rio de Janeiro, RJ; uma cadela com 13 anos da raça Poodle (caso 1), portadora de doença periodontal grau 1, e uma cadela de 8 anos de idade da raça Schnauzer (caso 2), portadora de doença periodontal grau 2.

Histórico do caso 1

Uma cadela da raça poodle, com 13 anos de idade, apresentava-se apática e em decúbito. Ao exame clínico,

o animal apresentava taquipneia, abdômen distendido, vulva edemaciada, hiperêmica, com presença de secreção transparente de odor fétido. Foi realizado o exame de ultrassonografia, onde se observou imagem sugestiva de hiperplasia endometrial cística associado à piometra.

Histórico do caso 2

Uma cadela da raça Schnauzer, apresentava-se apática, com febre, temperatura retal 42°C, presença de secreção vaginal purulenta. Foi realizado o exame de ultrassonografia abdominal, onde se observou imagem sugestiva de hiperplasia endometrial cística associado à piometra.

Dando prosseguimento ao atendimento e a necessidade da intervenção cirúrgica para tratamento do foco infeccioso, piometra, foi realizado o protocolo terapêutico em ambos os casos, visando oferecer conforto ao animal e a supressão da dor. Além disso, com o objetivo de auxiliar na determinação do prognóstico e monitorar a evolução e conduta terapêutica do animal, determinou-se a realização de hemogramas seriados.

Estas amostras foram coletadas da veia cefálica através da inserção de cateter venoso periférico associado ao dispositivo Luer de acesso fechado IV (Adaptador PRN) (Ueda et al. 2013), com uma seringa de 5 mL, agulha 25 x 7 mm, onde foi acondicionado em tubo de ensaio pediátrico com ácido etilendiaminotetracético (anticoagulante-EDTA). Com o material da própria seringa, ou seja, sem o contato com o EDTA, foram feitos dois estiraços sanguíneos, que foram corados utilizando conjunto para coloração diferencial rápida em hematologia (Instant - Prov - fabricado por Newprov produtos para laboratório Ltda, rua 1º de maio, 590/596 - Centro CEP 83323-020 Pinhais - Paraná, indústria brasileira) para contagem específica dos leucócitos e observações da morfologia e alterações pertinentes. As primeiras amostras foram coletadas no tempo zero, logo após o atendimento inicial e as demais foram coletadas a cada intervalo de aproximadamente seis horas entre elas, sendo a segunda amostra antes do tratamento cirúrgico; a terceira após a correção cirúrgica que ocorreu 12 horas após o atendimento inicial e a quarta no momento da alta dos pacientes.

Análise laboratorial

Todas as amostras foram processadas no CTI Veterinário, com a utilização de aparelho automático (Ms4-Vet-Melet Schloesing Laboratoires coulter), Microcentrifuga (E3500108 MICROSPIN CDR) e Refratômetro Clínico, para hemograma completo (leucograma, eritrograma, plaquetometria e proteína total) e concentrado de leucócitos e plaquetas (capa leucocitária) confeccionados em dois esfregaços, em lâminas de vidro, obedecendo a mesma técnica de fixação, desidratação e coloração do estiraço sanguíneo.

Coloração e observação das amostras

As lâminas dos estiraços e concentrados de leucócitos e plaquetas foram corados utilizando conjunto para coloração rápida em hematologia (Panótico Rápido LB-

-Laborclin produtos para laboratórios Ltda, Rua Case-miro de Abreu, 521 Pinhais, PR), obedeceram à mesma técnica de fixação, desidratação e coloração, observados em microscópio binocular (Eclipse E200, Nikon Instruments Inc. Japão) para avaliação da morfologia dos elementos figurados do sangue e com especial atenção às alterações morfológicas dos neutrófilos.

Identificação e diagnóstico

As alterações morfológicas dos leucócitos foram descritas e contadas conforme a contagem e classificação específica dos leucócitos.

Vacuolização citoplasmática. Vacúolos são espaços claros, de 1 a 5µm (equivalente à $5 \times 10^{-6} 10^{-6}$ mm) de diâmetro, que aparecem primeiramente de forma discreta, levando a uma perda da uniformidade granular, evoluindo até uma intensificação do citoplasma espumoso (Aroch et al. 2005). Esse é um resultado decorrente da toxicidade sistêmica severa e da digestão celular, onde toxinas bacterianas podem induzir a ruptura dos lisossomos, liberando as lisozimas (Thrall 2007). A visualização destes vacúolos costuma se extinguir de 12 a 24 horas após o início do tratamento (Emerson et al. 1970).

Corpúsculo de Döhle: Corpúsculos de Döhle são inclusões acinzentadas no citoplasma que resultam da agregação lamelar do RER (Reticulo Endoplasmático Rugoso), indicando processo inflamatório sistêmico. Em sua grande maioria, aparecem únicos, ovalados ou arredondados, irregulares na forma e frequentemente situados na periferia da célula. São mais comuns de serem observados na espécie felina do que em outras espécies animais (Aroch et al. 2005, Garland 2011).

Granulações tóxicas. Granulações tóxicas são pequenas estruturas observadas sob a forma de grânulos azurofílicos no citoplasma de neutrófilos pela retenção de ácido mucopolissacarídeo, que normalmente se perdem na maturação dos neutrófilos, apresentando-se como grânulos dispersos, pequenos e de coloração vermelho-rosado, comumente observados em casos de toxemia grave (Garland 2011); podem ainda ser resultado da endocitose de agentes tóxicos, com a formação de grânulos anormais (Salgado et al. 2007). Durante a maturação normal, grânulos primários são substituídos por grânulos secundários que não se coram (Aroch et al. 2005). A principal manifestação tóxica é a basofilia citoplasmática, alteração que se apresenta na coloração azul acinzentado ao azul escuro, presente em infecções bacterianas graves (Garland 2011), o oposto do citoplasma do neutrófilo normal, que pode ser homogênea ou não, e que pode se manifestar também nas formas jovens, onde essa basofilia é resultado da retenção de ribossomos e RER, devido a granulopose acelerada (Thrall 2007).

Neutrófilos gigantes. Neutrófilos gigantes são maiores que os neutrófilos normais, decorrentes de divisões mitóticas anormais durante o desenvolvimento das células precursoras de neutrófilos, apresentando machas, que variam do cinza ao azul escuro no citoplasma, podendo apresentar também núcleos segmentados (Aroch et al. 2005). Isso ocorre como resposta inflamatória à infecção, onde essas células são produzidas de forma ace-

lerada pelos órgãos leucopoéticos (rim e baço) (Thrall 2007, Liongue et al. 2009).

Neutrófilos em alvo. São células que possuem o núcleo em forma de anel, sendo a principal alteração nuclear tipicamente relacionada à sepse, são próprios de promielócitos e tornam-se visíveis também nos neutrófilos mielócitos tóxicos (Thrall 2007).

RESULTADOS

O resultado da histopatologia confirmou o diagnóstico clínico de hiperplasia endometrial cística associado à piometra com formações de projeções digitiformes, revestidas por epitélio cilíndrico com a presença de neutrófilos (Figura 1).

No caso 1 os valores dos hemogramas (Tabela 1) apresentaram a seguinte observações: no primeiro hemograma (após o atendimento inicial), apresentou hematócrito normal (VG=41%), contagem leucocitária normal (16.900) com neutrofilia (71% - 11.999), sendo 80% tóxicos, 20% degenerados, com 2% apresentando vacúolos, 6% com Corpúsculo de Döhle, e 4% em célula alvo; desvio nuclear de neutrófilos regenerativo a esquerda (22% - 3.718), sendo 100% de bastões tóxicos (3.718) e 50% de bastões gigantes (1.839), hiperproteinemia plasmática (8,2g/dL).

No segundo hemograma (aproximadamente 6 horas após o primeiro) foi observado anemia (VG=33%), com leucocitose de 18.720/mm³, neutrofilia (62%-11.606,4/mm³), sendo 100% de neutrófilos tóxicos, com 1% apresentando vacúolos, 3% com Corpúsculo de Döhle, com 2% em célula alvo, foi observado desvio nuclear de neutrófilos regenerativo a esquerda, com 27% de bastões, 12% tóxicos (606), sendo 30% de bastões gigantes e 20% de bastões com vacúolos, hiperproteinemia plasmática (11,4 mg/dL).

No terceiro hemograma (aproximadamente 12 horas após o primeiro e imediatamente após a cirurgia), VG=41%, havia uma leucometria de

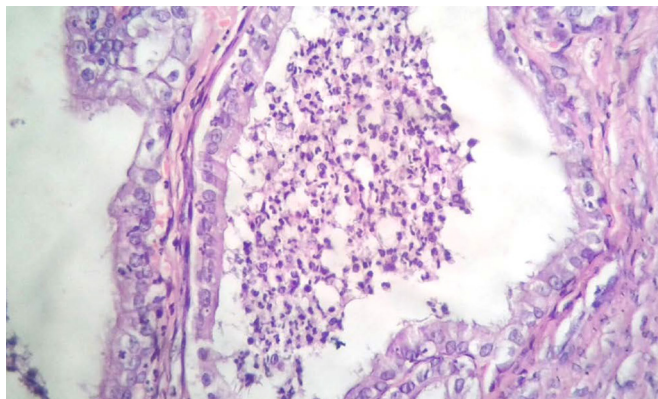


Figura 1. Infiltrado de neutrófilos em endométrio em um dos casos. HE. Obj. 40X.

Tabela 1. Determinação de sepse em uma cadela da raça Poodle no caso 1.

Elementos figurados	Hemogramas			
	1	2	3	4
Neutrófilos Tóxicos	9.599 (80) ^a	11.606 (100)	4.243 (58)	8.245 (50)
Com Vácuolos	192 (2)	2.321 (20)	127 (3)	-
Em Alvo	384 (4)	232 (2)	85 (2)	-
Degenerados	1.920 (20)	-	-	2.061 (25)
Careorrexia	-	-	42 (1)	-
Corpúsculo de Dohle	576 (6)	348 (3)	127 (3)	-
Fagocitose Coccus	-	-	127 (3)	-
Bastões Tóxicos	3.718 (100)	606 (12)	1.770 (75)	-
Bastões Gigantes	1.859 (50)	182 (30)	885 (50)	-
Bastões com vacúolos	-	121 (20)	53 (3)	-

^aValores em percentual.

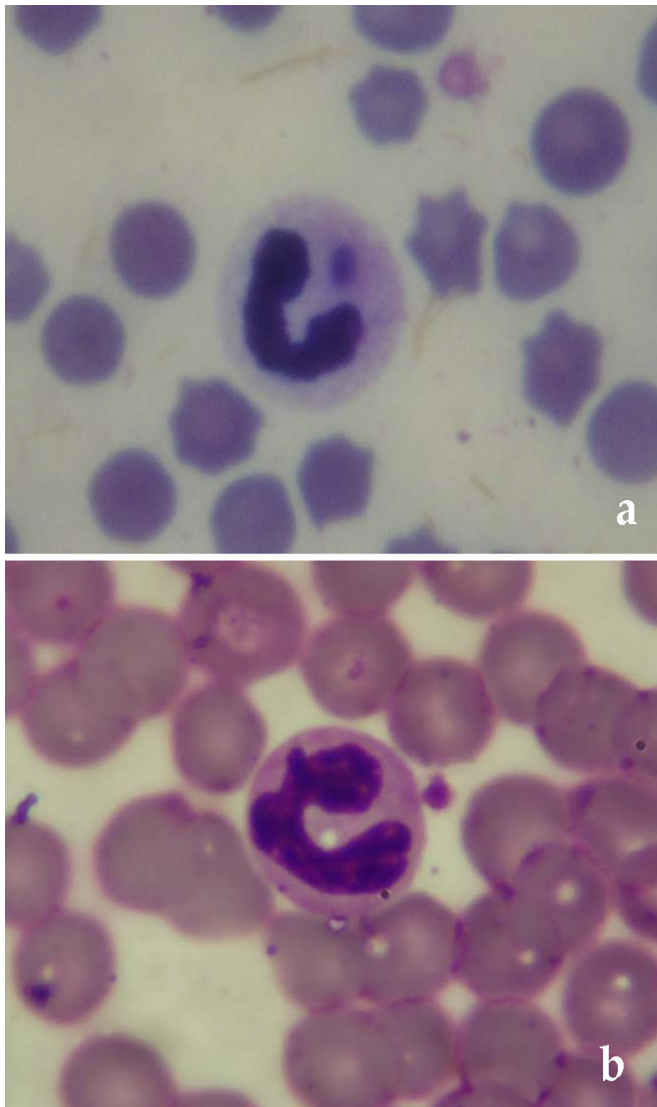


Figura 2. Neutrófilos tóxicos observados em estiraço de sangue: Corpúsculo de Döhle (a), Vacúolos (b). Panótico Rápido. Obj. 100X.

11.800mm³, com 62% de neutrófilos (7.316), sendo 58% tóxicos (4.243), 3% com vacúolos, 2% em alvo, 1% em cariorrexia, 3% fagocitando coccus, desvio nuclear de neutrófilos regenerativo a esquerda,

com 20% de bastões (2.360), sendo 75% de bastões tóxicos (1.770) e 50% gigantes (885).

No quarto e último hemograma (alta do paciente) foi observado VG=38%, leucocitose (19.400/mm³), neutrofilia (85%-16.490), sendo 50% tóxicos (8.245), 25% degenerados (2.061), foi observado 3% de bastões (582), normoproteinemia plasmática (7,4g/dL).

No caso 2 os valores dos hemogramas (Tabela 2) apresentaram as seguintes observações: no primeiro hemograma (após o atendimento inicial), apresentou hematócrito normal (VG=50%), contagem leucocitária normal (10.600/mm³), com neutrofilia (83% - 8.798/mm³), sendo 90% tóxicos (7.918) com 1% apresentando vacúolos, 1% com Corpúsculo de Döhle, 1% com careorrexia, 2% fagocitando coccus, e 3% em célula alvo, foi observado ainda 6% de bastões (636/mm³), sendo 66% de bastões gigantes e hiperproteinemia plasmática (8mg/dL).

No segundo hemograma (aproximadamente 6

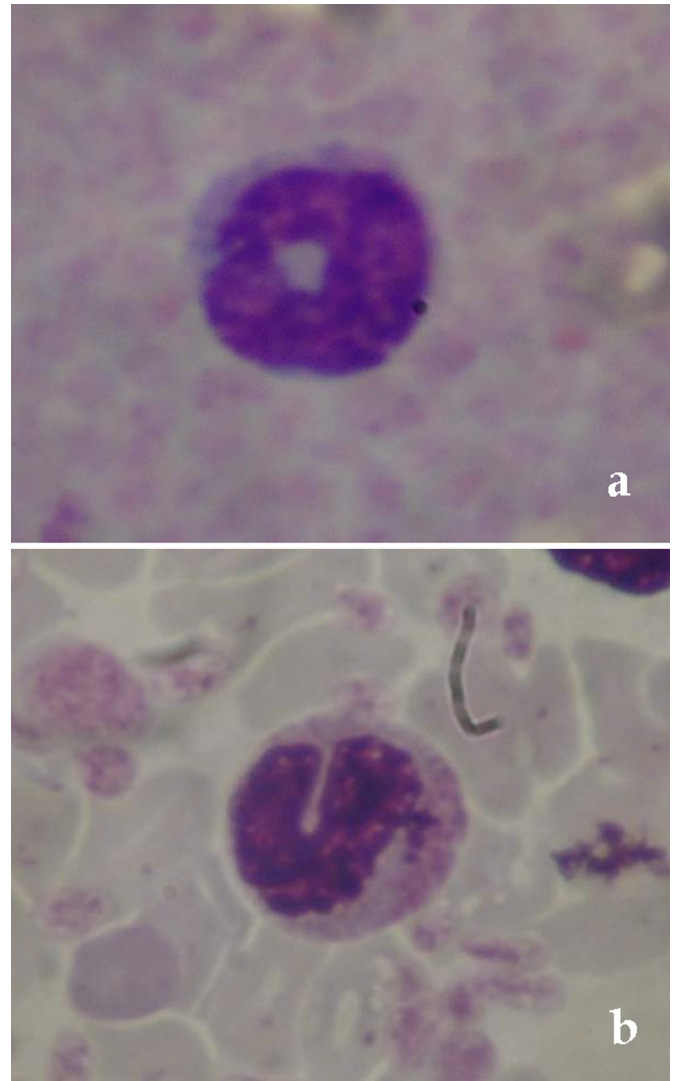


Figura 3. Neutrófilos tóxicos observados em estiraço de sangue: Em alvo (a), Bastão gigante (b). Panótico Rápido. Obj. 100X

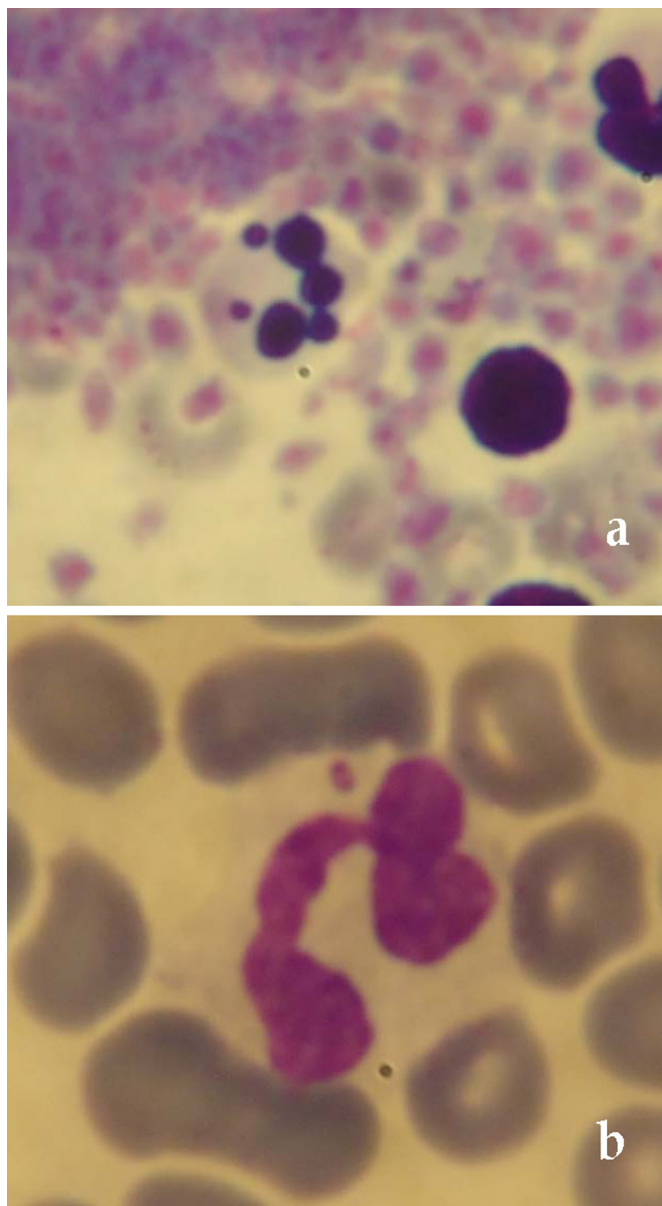


Figura 4. Neutrófilos tóxicos observados em estirado de sangue: Careorrexia (a), Fagocitose cocos (b). Panótico Rápido. Obj. 100X.

horas após o primeiro) foi observado uma anemia (VG=37%), esse decréscimo foi devido a hemodiluição (Cornelius 1980), leucometria de 11.000 com 84% de neutrófilos (9.240/mm³), sendo 97% de neutrófilos tóxicos (8.963), com 1% apresentando vacúolos, 2% com Corpúsculo de Döhle, 1% fagocitando cocos, desvio nuclear de neutrófilos regenerativo a esquerda, com 6% de bastão, sendo 33% de bastões gigantes (217) e hiperproteinemia plasmática (7,8mg/dL).

No terceiro hemograma (12 horas após o primeiro e imediatamente após a cirurgia), apresentou anemia (VG=35%), contagem leucocitária normal de 11.000/mm³, com 83% de neutrófilos (9.130/mm³), sendo 100% tóxicos, 1% com vacúolos, 4%

Tabela 2. Determinação de sepse em uma cadela da raça Shnawzer no caso 2.

Elementos figurados	Hemogramas			
	1	2	3	4
Neutrófilos Tóxicos	7.918 (90) ^a	8.963 (97)	9.130 (100)	20.532 (100)
Com Vacúolos	79 (1)	89 (1)	91 (1)	-
Em Alvo	237 (3)	-	365 (4)	410 (2)
Degenerados	-	-	-	-
Careorrexia	79 (1)	-	-	-
Corpúsculo de Dohle	79 (1)	179 (2)	365 (4)	821 (4)
Fagocitose Coccus	158 (2)	89 (1)	91 (1)	205 (1)
Bastões Tóxicos	-	-	-	-
Bastões Gigantes	420 (66)	217 (33)	330 (60)	-
Bastões com vacúolos	-	-	110 (20)	-

^aValores em percentual.

com Corpúsculo de Döhle, 4% em alvo, 1% fagocitando cocos e foi observado desvio nuclear de neutrófilos regenerativo a esquerda, com 5% de bastões (550), sendo 60% de gigantes (330) e 20% de bastões com vacúolos.

No último hemograma (alta do paciente), foi observado hematócrito normal (VG=48%), leucocitose com 23.600/mm³, sendo 87% de neutrófilos (20.532), 100% tóxicos, com 4% com Corpúsculo de Dohle, 1% fagocitando Coccus, 2% em alvo, e desvio nuclear de neutrófilos regenerativo a esquerda, com 6% de bastões (1.416).

DISCUSSÃO

As cadelas acometidas tinham respectivamente 13 e 8 anos, portanto ambas idosas, obedecendo a incidência descrita (Dow 1959, Niskanen & Thrusfield 1998, Egenvall et al. 2001), de que há uma maior frequência da doença em cadelas acima dos quatro anos de idade. O diagnóstico foi determinado através da anamnese, sinais clínicos, exames laboratoriais e ultrassonografia abdominal, assim como foram descritos por Nelson & Couto (1998 e 2006) e confirmados pela histopatologia concordando com os achados de Dow (1959) e Weiss et al. (2006).

Ambos os animais tiveram hematócrito normal, (50% e 41%, respectivamente) após o atendimento inicial, obedecendo a descrição de outros estudos (Ferreira et al. 2010), onde esse autor relata a baixa evidência de anemias, ou anemia leve em cadelas com piometra. Apresentou em ambos os casos a contagem leucocitária normal no primeiro hemograma, diferente do descrito por Rebar et al. (2003), mas justificado por Gosset (1984), Latimer & Rakich (1989), Schultze (2010), Garland (2011) & Lambert et al (2016) em que não é a quantidade de leucócitos que irá indicar se há de fato um processo infeccioso e/ou inflamatório instalado, mas sim a presença de neutrófilos tóxicos, assim como foi observado em

ambos os casos neste trabalho, com a presença de 80% e 90% de neutrófilos tóxicos respectivamente, onde os neutrófilos tóxicos estão sempre associados com infecções bacterianas graves, neste caso a piometra e a doença periodontal concomitante, acelerando o processo de neutropoese, com liberação subsequente dessas células da medula antes da sua maturação. Em ambos os casos observou-se hiperproteinemia plasmática (8,2 e 8 respectivamente), corroborando com os de Tizard (2009).

No segundo hemograma, em ambos os casos se nota a presença de uma anemia discreta (33 e 37%, respectivamente), onde este decréscimo pode ser explicado pela hemodiluição, após as primeiras horas de fluidoterapia, segundo Cornelius (1980). A leucocitose no caso 1 (18.720) com neutrofilia (11.606,4/mm³), desvio nuclear de neutrófilos à esquerda (DNNE) e com 100% dos neutrófilos tóxicos, está semelhante aos resultados de Feldman (2004) e Smith (2006), sendo um hemograma característico com resposta inflamatória e sepse. Já no segundo caso, a contagem leucocitária não indicou grandes alterações desde o primeiro hemograma, apresentando 97% de neutrófilos tóxicos e DNNE (660/mm³), resultado da intensa migração de neutrófilos para os tecidos e pela aceleração da neutropoiese, segundo Schultze (2010) e Lambert et al. (2016). Em ambos os casos, os animais tiveram hiperproteinemia (11,4 mg/dl e 7,8 mg/dl respectivamente), aumento causado, segundo Tizard (2009) pela concentração de globulinas em processos infecciosos.

No terceiro hemograma, o hematócrito da cadela do caso 1 retornou à normalidade, diferente do que ocorreu com a cadela do caso 2, que permaneceu com o hematócrito abaixo do valor normal (35%), entretanto dentro do esperado, visto que segundo Dunn (2001) e Thrall (2007), o hematócrito pode levar até 2 semanas para retornar ao normal após um episódio hemorrágico como a cirurgia. Neste hemograma logo após o procedimento cirúrgico, pode-se notar uma melhora com retorno da contagem leucocitária a normalidade no caso 1 (11.800/mm³), e a manutenção da contagem leucocitária normal no caso 2 (11.000/mm³). A presença de neutrófilos tóxicos no caso 1 diminuiu de forma expressiva (58%), se comparada com o hemograma anterior (100%), logo após a cirurgia, aonde foi retirado o foco infeccioso. Já no caso 2, os neutrófilos tóxicos permaneceram altos (100%), devido a infecção causada provavelmente pela doença periodontal grau 2, gerando uma resposta inflamatória (Gorrel 2010) tão importante quanto a causada pela piometra. Vale lembrar que o ato cirúrgico é uma agressão e

gera inflamação, justificando os resultados encontrados (Meyer 1999, Dunn 2001, Thrall 2007).

No quarto hemograma, onde a coleta foi realizada momentos antes da alta do paciente, em ambos os casos o hematócrito esteve normal (38% e 48% respectivamente), inclusive o hematócrito do caso 2, que logo após a cirurgia apresentava-se abaixo da normalidade, e após aproximadamente 6 horas do procedimento cirúrgico voltou a normalidade, assim como descreveu Dunn (2001) e Thrall (2007). Nos dois casos pode-se observar a presença de leucocitose (19.400/mm³ e 23.600/mm³, respectivamente), neutrofilia (16.490/mm³ e 20.532/mm³, respectivamente) e DNNE (582/mm³ e 1.416/mm³), resultado da doença periodontal que é uma infecção persistente, o que corrobora com a descrição de Purvis & Kirby (1994), de que as infecções graves desencadeiam um processo inflamatório sistêmico aliado aos processos inflamatórios gerados pela manipulação das vísceras abdominais e pelo trauma cirúrgico (Meyer 1999).

Doenças concomitantes interferem de forma prejudicial na recuperação dos pacientes, como a doença periodontal que é um fator de risco para inflamação, atuando também no agravamento e/ou desenvolvimento de outras enfermidades, além de comprometer o bem-estar animal. Além disso, considera-se que a partir da comparação dos resultados apresentados, pode-se avaliar uma possível correlação entre o estágio da doença periodontal, com a graduação dos neutrófilos tóxicos e que os hemogramas seriados são uma alternativa confiável no diagnóstico precoce da sepse, além de um importante meio para monitorar a evolução do paciente e direcionar possíveis alterações na terapêutica.

CONCLUSÃO

A presença dos neutrófilos tóxicos está intimamente ligada às infecções bacterianas, havendo uma queda expressiva após a retirada do foco infeccioso, sendo um importante marcador de prognóstico. Além disso, pode-se observar que as periodontites estimulam uma resposta inflamatória tão expressivas quanto às outras infecções sistêmicas.

REFERÊNCIAS

- Abbas A.K., Lichtman A.H. & Pober J.S. Células e tecidos do sistema imune. *Imunologia Celular e Molecular*. Editora Revinter, Rio de Janeiro, 2000, p.16-33.
- Aroch I., Klement E. & Segev G. Clinical, biochemical, and haematological characteristics, disease prevalence and prognosis of dogs presenting with neutrophil toxicity. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19:64-73, 2005.
- Christ-Crain M. & Müller B. *Yearbook of intensive care and emergency medicine*. Springer Science & Business Media, Philadelphia, 2007, p.23-31.

- Coles D.V.M. Leucócitos. *Patologia clínica veterinária*. 3ª ed. Editora Manole, São Paulo, 1984, p.15.
- Cornelius L.M. Fluid therapy in small animal practice. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 176:110-114, 1980.
- de Oliveira C.A., Azzolini A.E.C.S., Silva S.C., Kanashiro A., Kabeya L.M., de Azevedo A.P.G.B., Gonçalves C.F. de F., Coreldiro D.S., da Silva Leitão D.P., Gaspar L.R., de Souza P.L.V., Valim Y.M.L. & Mantovani B. Avaliação bioquímica e ultraestrutural da interação de imunocomplexos de IgG com leucócitos polimorfonucleares: efeito de antioxidantes naturais. *Eclética Química*, 27:273-284, 2002.
- Dow C. Experimental reproduction of the cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Journal Pathology and Bacteriology*, 78:267-278, 1959.
- Dunn J.K. *Tratado de Medicina de Pequenos Animais*. Roca, São Paulo, 2001.
- Egenvall A., Hagman R., Bonnett B.N., Hedhammar A., Olson P. & Lagerstedt A.S. Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15:530-538, 2001.
- Emerson W.A., Zieve P.D. & Krevans J.R. Hematologic changes in septicemia. *Johns Hopkins Medical Journal*, 126:69-76, 1970.
- Feldman E.C. The cystic endometrial hyperplasia/pyometra complex and infertility in female dogs, p.1549-1565. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), *Textbook of veterinary internal medicine-diseases of the dog and the cat*, 5th ed. WB Saunders, Philadelphia, 2004.
- Ferreira P.C.D.C., Stopiglia A.J., Oliveira C.M.D., Andrade L.D.C., Fantoni D.T., Barbosa D.A. & Schinizu M.H.M. Avaliação da terapia com fluido no período perioperatório da ovariossalpingohisterectomia, em cadelas com piometra e insuficiência renal aguda. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 47:282-292, 2010.
- Garland M. Common morphological changes seen in canine and feline haematology - leucocytes. *Veterinary Nursing Journal*, 26:85-87, 2011.
- Gorrel C. *Odontologia em pequenos animais*, Elsevier, Rio de Janeiro, 2010, p.31-61.
- Gossett K.A., MacWilliams P.S. & Cleghorn B. Sequential morphological and quantitative changes in blood and bone marrow neutrophils in dogs with acute inflammation. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 49:291-297, 1984.
- Gossett K.A. & Carakostas M.C. Effect of EDTA on morphology of neutrophils of healthy dogs and dogs with inflammation. *Veterinary Clinical Pathology*, 13:22-25, 1984.
- Itamar A., Eyal K. & Gilad S. Clinical biomedical and hematological characteristics, disease prevalence and prognosis of dogs Presenting with neutrophil cytoplasmic toxicity. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 19:64-73, 2005.
- Jitpean S., Pettersson A., Höglund O.V., Holst B.S., Olsson U. & Hagman R. Increased concentrations of serum amyloid A in dogs with sepsis caused by pyometra. *BMC Veterinary Research*, 10:1, 2014.
- Jitpean S., Ström-Holst B., Emanuelson U., Höglund O.V., Pettersson A., Alneryd-Bul C. & Hagman R. Outcome of pyometra in female dogs and predictors of peritonitis and prolonged postoperative hospitalization in surgically treated cases. *BMC Veterinary Research*, 10:6, 2014
- Khan L.A., Raghuwanshi D.S., Vhora S.C., Utage S.G. & Upadhye S.V. Comparative efficacy of different methods for diagnosis of pyometra. *Royal Veterinary Journal of India*, 4:43-45, 2008.
- Lambert J.L., Fernandez N.J. & Roy M.F. Association of presence of band cells and toxic neutrophils with systemic inflammatory response syndrome and outcome in horse with acute disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26:85-87, 2016.
- Latimer K.S. & Rakich P.M. Clinical interpretation of leukocytes responses. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 19:6397-668, 1989.
- Liongue C., Hall C.J., O'Connell B.A., Crosier P. & Ward A.C. Zebrafish granulocyte colony-stimulating factor receptor signaling promotes myelopoiesis and myeloid cell migration. *Blood*, 113:2535-2546, 2009.
- Meyer T.N. & Silva A.L. Resposta celular ao estresse. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 45:181-188, 1999.
- Nelson R.W. & Couto C.G. Distúrbio da vagina e do útero, p.681-684. In: Nelson R.W. & Couto C.G. (Eds), *Medicina Interna de Pequenos Animais*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1998.
- Nelson R.W. & Couto C.G. Doenças hepatobiliares no cão, p.507-525. In: Couto C.G. & Nelson R.W. (Eds), *Medicina interna de pequenos animais*. 3ª ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 2006.
- Niemiec B.A. Periodontal disease Using Current Information to Improve Client Compliance. *Today's Veterinary Practice*, 2:61-66, 2012.
- Niskanen M. & Thrusfield M.V. Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *Veterinary Record*, 143:493-498, 1998.
- Pavlica Z., Petelin M., Juntas P., Erzen D., Crossley D.A. & Skaleric U. Periodontal disease burden and pathological changes in organs of dogs. *Journal of Veterinary Dentistry*, 25:97-105, 2008.
- Pierrakos P. & Vicent J.L. Sepsis biomarkers: a review. *Critical Care*, 14:1-18,2010.
- Purvis D. & Kirby R. Systemic inflammatory response syndrome: septic shock. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 24:1225-1247, 1994.
- Rebar A.H., MacWilliams P.S., Feldman B.F., Metzger F.L., Pollock R.V. & Roche J. *Guia de hematologia para cães e gatos*. Roca, São Paulo, 2003, p.159-163.
- Salgado D.N.S., Carvalho R.G., Oliveira M. de F.P., Santos E.J.M. & Brito Junior L.C. Importância da presença de granulações tóxicas para o diagnóstico hematológico de septicemia. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 29:373-377, 2007.
- Schalm O.W. *Hematologia Veterinária*. Editora Union Tipografica Editorial Hispano Americana, México, 1964. 404p.
- Schepper J., Stock J. & Capiou E. Anaemia and leucocytosis in one hundred and twelve dogs with pyometra. *Journal of Small Animal Practice*, 28:137-145, 1987.
- Schuetz P., Christ-Crain M. & Müller B. Biomarkers to improve diagnostic and prognostic accuracy in systemic infections. *Current Opinion in Critical Care*, 13:578-585, 2007.
- Schultze A.E. Interpretation of canine leukocyte responses, p.321-334. In: Weiss D.J. & Wardrop K.J. (Eds), *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Wiley-Blackwell, Ames, 2010.
- Segev G., Klement E. & Aroch I. Toxic neutrophils in cats: clinical and clinicopathologic features, and disease prevalence and outcome - a retrospective case control study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20:20-31, 2006.
- Sevelius E., Tidholm A. & Thoren-Tolling K. Pyometra in the dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 26:33-38, 1990.
- Smith F.O. Canine pyometra. *Theriogenology*. 66:610-612, 2006.
- Thrall M.A. Considerações sobre leucócitos e leucograma. *Hematologia e bioquímica - Clínica Veterinária*. Editora Roca, São Paulo, 2007, p.118-122.
- Tizard I.R. *Introdução à Imunologia Veterinária*. 8ª ed. Elsevier, Barcelona, 2009. 592p.
- Trapp S.M., Iacuzio A.I., Barca Junior F.A., Kemper B., da Silva L.C., Okano W., Tanaka N.M., Grecco F.C. de A.R., da Cunha Filho L.F.C. & Sterza F. de A.M. Causas de óbito e razões para eutanásia em uma população hospitalar de cães e gatos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 47:395-402, 2010.
- Ueda Y., Odounayo A. & Mann F.A. Comparison of heparinized saline and 0,9% sodium chloride for maintaining peripheral intravenous catheter patency in dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23:517-522, 2013.
- Viana J., Vale-Pereira S., Loureiro C., Mota-Pinto A. & Todo-Bom A. *Estudo da Hipersensibilidade a AINEs e Teste de Ativação de Basófilos*. *Revista da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia*, 73:293-298, 2015.
- Weiss D.J. A retrospective study of the incidence and the classification of bone marrow disorders in the dog at a veterinary teaching hospital (1996-2004). *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 20:955-961, 2006.
- Wheaton L.G., Johnson A.L., Parker A.J. & Kneller S.K. Results and complications of surgical treatment of pyometra: a review of 80 cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 25:563-568, 1989.