

DEPARTAMENTO DA PRODUÇÃO ANIMAL — BELO HORIZONTE, ESTADO
DE MINAS GERAIS

ESTUDO PRELIMINAR SÔBRE A OCORRÊNCIA DE RETICULÓCITOS NA ANAPLASMOSE E PIROPLASMOSE (*)

PRELIMINARY STUDY OVER THE OCCURRENCE OF RETICULOCYTES IN
ANAPLASMOSIS AND PIROPLASMOSIS

A. VIEIRA MACHADO (**)

1 gráfico no texto

I N T R O D U Ç A O

A literatura sôbre reticulócitos é bastante escassa em patologia animal, como são também escassos os informes relativos aos seus valores normais. SMITH ⁽¹³⁾ em 1891 e SMITH e KILBORNE ⁽¹⁴⁾, em 1893, foram os primeiros a relatar a presença de reticulócitos na piroplasmose (Texas fever) e COFIN ⁽⁴⁾ é um dos poucos pesquisadores, que fazem referência à presença de reticulócitos no sangue normal dos animais domésticos, mesmo assim baseado em número limitado de indivíduos.

Os dados dêste trabalho são por demais reduzidos em número. Constituem, no entanto, uma pequena contribuição à literatura hematológica animal e podem servir, no futuro, como um elemento de consulta a mais nos serviços de premunicação tão freqüente e importante em nosso meio. Por outro lado, no Brasil, parece-nos ser o presente estudo uma das primeiras contribuições sôbre o assunto.

Além de reticulócitos, propomo-nos determinar outros valores tanto normais como modificados pelas plasmoses em questão, a saber: porcentagem de infecção, volume corpuscular, hemoglobina e temperatura do corpo. Alguns dêstes elementos já foram bastante estudados, mas estão aqui incluídos para fins de auxílio na comparação dos dados.

Revedo a literatura de que dispomos sôbre o assunto, verificámos que, quanto a reticulócitos, COFFIN ⁽⁴⁾ cita apenas dados normais, mas é omissos em relação às modificações durante o curso da febre do carrapato. JIMÉNEZ DE ASÚA e col. ⁽⁸⁾, em 1928, assinalaram a presença de reticulócitos na ana- e piroplasmose, sem entretanto se referirem ao seu número. Relatam ainda que, nos animais ainda normais, não existem hemátias granulo-filamentosas ou são tão escasas que seu número é desprezível. Dos dados dêstes autores, deduz-se que os reticulócitos começam a aparecer na corrente circulatória cêrca de 10 dias após

(*) Projeto experimental I.Z. 015: Divisão de Experimentação, Departamento da Produção Animal, Secretaria da Agricultura.

(**) Professor do Departamento de Histologia e Anatomia Patológica da Escola Superior de Veterinária, Belo Horizonte, Minas Gerais.

a inoculação do sangue infectado, atingindo o máximo aos 15 dias, caindo logo em seguida, para se elevarem novamente com muita intensidade aos 35 dias. Os autores explicam que a primeira elevação do número de reticulócitos foi devida à reação das funções hematopoiéticas, como compensação à hemolise causada pelo anaplasma. Em muitos animais, os autores não encontraram hemátias granulofilamentosas.

Relativamente à presença do piroplasma, os autores, usando a técnica do sangue quente, relatam o número de parasitos por campo e, como acima, deduz-se que o aparecimento de piroplasmas no sangue se inicia geralmente no 4.º dia após a inoculação com sangue contaminado, com uma ocorrência de menos de um parasito por campo. O grau máximo de infecção deste parasito ocorre aproximadamente no 8.º dia com mais de 20 parasitos por campo. O seu desaparecimento foi muito variável, oscilando de 12 a 46 dias. Para o anaplasma, relatam que o início de seu aparecimento é entre 20 e 30 dias, com menos de um parasito por campo; o grau máximo de infecção foi entre 30 e 37 dias, com mais de 20 parasitos por campo, e o seu desaparecimento se verificou depois de 85 dias. SANDERS (12), em 1933, usando infecção por tabanídeos e transmissão por carrapatos, encontrou hemátias parasitadas por anaplasma entre 39 e 51 dias. A porcentagem de células parasitadas foi de 4 por cento aos 39 dias para um animal e 1,6 para outro animal. Aos 42 dias, a porcentagem de infecção foi 25 por cento para o primeiro animal e, para o segundo, 50 por cento aos 39 dias.

REES e HALE (11), trabalhando com quatro animais de 1,5 a 2 anos de idade, determinaram a porcentagem de anaplasma no sangue de bovinos artificialmente infectados, e encontraram uma média de 10,6 por cento no 17.º dia após a inoculação; 9,4 por cento no 19.º; 10,9 no 21.º dia; 11,9 no 30.º dia e 0,9 por cento no 33.º.

Quanto ao volume corpuscular, poucas referências foram encontradas sobre o assunto e os dados de FERGUSON (5) e BODDIE e HOLMAN (1) e (7), são os que tomamos como base. O primeiro, trabalhando com bovinos Holandêses de 3 a 8 anos de idade, encontrou uma média de 31 por cento, com uma variação de 28,71 a 37,83 por cento. BODDIE e HOLMAN (1) e (7) encontraram uma média de 28 por cento.

MATERIAL E MÉTODOS

Por motivos independentes de nossa vontade, em um dos nossos trabalhos anteriores (3), não nos foi possível determinar a porcentagem de reticulócitos, nem o volume corpuscular em bovinos normais ou no decorrer da evolução da doença. Mais tarde, achamos que estes dados poderiam ser usados como fonte de informações, motivo pelo qual aproveitamos nova remessa de animais Holandêses, preto e branco, puro sangue, diretamente importados da Holanda e subme-

tidos à premunição no Departamento da Produção Animal, Secretaria da Agricultura do Estado de Minas Gerais.

Os animais em questão foram colocados em galpões que atendiam aos preceitos de higiene, tais como piso impermeabilizado, paredes e portas teladas, coberturas de telha vã, isento de carrapatos e, praticamente, de moscas. Os animais eram em número de quatro, com a idade de 18 a 24 meses, e seu peso vivo estimado em 350 quilos em média.

Antes que os animais sofressem quaisquer inoculações, iniciamos as nossas determinações, em número de duas, em dias alternados, com o fito de estabelecermos os *padrões* para as demais dosagens e contagens durante o curso da doença.

Logo após êstes exames, os animais foram inoculados com o sangue parasitado na quantidade de 3 cm³ por cabeça, proveniente de um animal comprovadamente portador de piro- e anaplasrose.

A seguir, foram feitas as determinações com intervalos regulares de 7 em 7 dias até o 35.º dia após a inoculação; de 2 em 2 dias, até o 55.º dia; de 4 em 4 dias, até o 75.º dia; de 7 em 7 dias, até o 89.º dia e, daí por diante, de 15 em 15 dias, até o 134.º dia.

Êstes dados permitem a determinação do aparecimento de reticulócitos, seu grau máximo e queda; volume corpuscular, hemoglobina, porcentagem de hemátias parasitadas e temperatura do corpo, e a evidenciação de possíveis correlações entre êsses valores.

O sangue foi sempre retirado pela manhã, da jugular, numa quantidade de 5 cm³ e colhido em tubos de ensaio, contendo uma quantidade conhecida de oxalato de potássio e amônio, segundo recomenda HELLER e PAUL (6): 0,8 gr de oxalato de potássio; 1,2 gr de oxalato de amônio; 100 cm³ de água destilada. Foram tomados 0,5 cm³ da solução para cada tubo e evaporada antes de usar. Esta técnica foi empregada a fim de diminuir a possibilidade de erro na determinação do volume corpuscular. Tôdas as determinações foram feitas imediatamente após a colheita do material.

Para a determinação da porcentagem de reticulócitos, a técnica usada foi a preconizada por Osgood-Wilhelm, citado por COFFIN (4), com ligeira modificação: ao invés de se colocar entre a lâmina e a lamínula a gôta contendo partes iguais de corante (azul de crezil a 1%) e sangue, púnhamos a gôta com o corante numa das extremidades da lâmina e fazíamos o esfregão da maneira usual. Logo em seguida era feita a coloração pelo método de Giemsa, calculando-se a porcentagem de reticulócitos após a contagem de 3.000 hemátias.

O volume corpuscular foi determinado em tubos hematócitos de Wintrobe, segundo recomenda TODD e SANFORD (15).

A porcentagem de infecção foi determinada da maneira usual, sobre 1.000 hemátias, tendo sido feita a primeira contagem sobre 500 hemátias pelos técnicos do serviço de premunicação (Drs. A. F. Junqueira, neto, e J. Britto Figueiredo), e a segunda, também sobre 500, por nós. Foi usada a média das duas contagens.

A temperatura foi tomada diariamente, pela manhã e à tarde, tendo sido considerada, neste estudo, a média das duas. Deixamos de registrar aqui toda a curva da temperatura, por fugir um pouco aos nossos objetivos. Os dados térmicos de nosso interesse foram tomados somente na época da colheita dos outros elementos.

Foram feitas no total 104 determinações de reticulócitos, de volume corpuscular e hemoglobina. Para a porcentagem de infecção, foram feitas 208 determinações.

RESULTADOS

1. *Reticulócitos*

Constatámos que os animais antes da inoculação não apresentaram nenhum reticulócito no sangue circulante, confirmando aliás as observações de RANGEL (10), estudando o quadro hematológico de Zebus.

No presente estudo, as nossas pesquisas nos animais depois de inoculados foram também negativas até a 9.^a contagem ou melhor, até o 41.^o dia após a inoculação, quando apresentaram uma média de 2,5 reticulócitos por 100 hemátias. A porcentagem destes elementos foi aumentando progressivamente até atingir o máximo de 7,0 por cento aos 49 dias, decrescendo daí em diante numa escala progressiva (Quadro 1 e Figura 1).

Praticamente não houve grandes variações nas contagens para os indivíduos, havendo certa uniformidade tanto na ascensão como no declínio de reticulócitos em todos os animais.

Além dos reticulócitos, encontrámos ainda outras formas jovens de hemátias, tais como eritroblastos, orto- e policromáticos, eritroblastos basófilos e também hemátias policromáticas, anisocitose, poiquilocitose e corpúsculos de Joly. Estes elementos, vistos também em nossas pesquisas anteriores (3), demonstram a regeneração ativa das hemátias ou um aumento da função da medula óssea nas anemias secundárias. O número destes elementos é relativamente escasso, motivo pelo qual não nos animámos a tentar a sua determinação numérica.

2. *Porcentagem de infecção.*

A determinação da porcentagem média de infecção foi feita, tomando-se a média de duas contagens, por técnicos diferentes. Não houve grande variação entre uma e outra. Observamos que os animais não apresentaram nenhum parasito até o 14.^o dia após a inoculação e, no 21.^o, somente alguns piroplasmas fo-

QUADRO 1. — Valores médios normais e durante o curso da piro- e anaplasmosse.

Elementos		Reticulócitos (por cento)	Infecção (por cento)	Volume corpuscular (por cento)	Hemoglobina (gr por 100 cm ³ de sangue)	Temperatura C°
Número de animais		4	4	4	4	4
Valores normais		0,0	0,0	37,2	11,4	38,2
Dias após a inoculação	1	0,0	0,0	37,0	11,9	38,7
	7	0,0	0,0	35,0	11,4	38,7
	14	0,0	0,0	37,5	12,4	38,5
	21	0,0	0,0	34,5	10,0	39,8
	28	0,0	0,0	31,5	9,6	38,6
	35	0,0	4,4	28,0	8,9	39,8
	37	0,0	9,3	25,5	7,4	40,0
	39	0,0	12,1	19,2	5,6	40,2
	41	2,5	18,0	18,0	5,2	40,2
	43	2,4	17,3	17,0	3,5	40,0
	45	3,0	11,0	16,0	3,0	39,6
	47	4,8	9,2	18,0	5,3	39,5
	49	7,0	7,5	19,0	5,5	39,6
	51	6,2	6,0	21,0	5,9	39,3
	53	6,4	2,6	21,0	6,3	38,8
	55	4,0	0,9	26,0	7,8	38,8
	59	4,0	0,5	28,0	8,3	38,8
63	3,9	0,1	28,0	8,5	38,9	
67	2,4	0,0	28,0	8,7	39,4	
71	1,9	0,0	25,0	9,5	39,0	
75	1,8	0,0	24,0	8,0	38,5	
82	1,2	0,0	27,0	9,0	38,7	
89	0,9	0,0	30,0	8,2	38,8	
104	0,5	0,0	30,0	9,8	38,6	
119	0,0	0,0	35,0	11,1	38,5	
134	0,0	0,0	35,0	10,8	38,5	

ram vistos nos esfregaços numa proporção demasiadamente pequena, não oferecendo oportunidade para a sua determinação numérica. Somente num animal, no 21.º dia após a inoculação, constatámos 1,5 por cento de piroplasmas; nos outros animais, em alguns esfregaços após o 14.º dia, os piroplasmas ocorreram tão escassamente que, transformando-se o seu número em porcentagem, daria menos de 0,25 por cento. A explicação para tal fato reside talvez no tratamento instituído, quando êstes animais apresentaram os primeiros sintomas clínicos da piroplasmose. Para evitar que a doença tomasse caráter mais grave, foram tratados com medicação específica, diminuindo desta maneira a infecção neste primeiro período.

Para os anaplasmas, como demonstram o Quadro 1 e Figura 1, as nossas pesquisas foram negativas até a 5.ª determinação, ou seja até o 35.º dia após

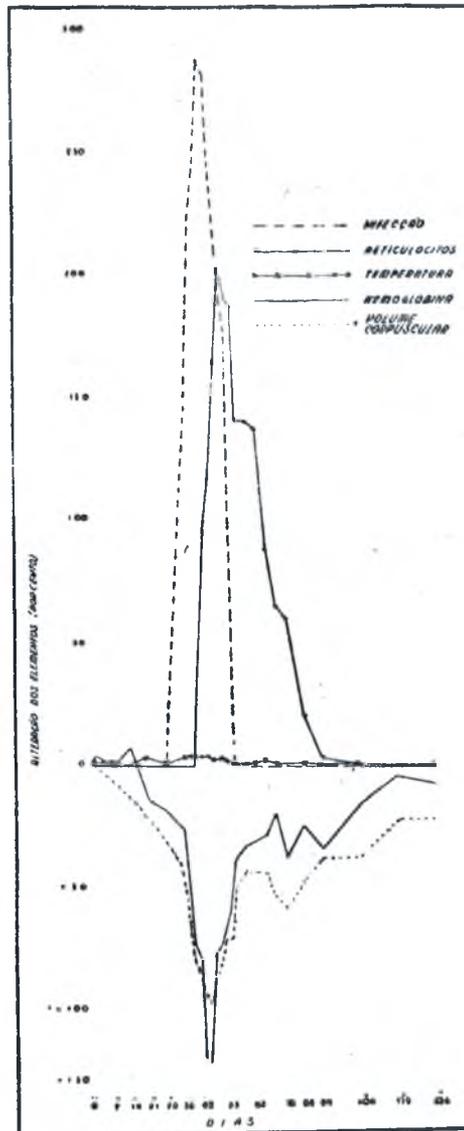


Fig. 1 — Mudanças ocorridas em reticulócitos, porcentagem de infecção, volume corpuscular, hemoglobina e temperatura do corpo, durante o curso da premunição contra a piro e anaplasnose. As razões das porcentagens foram obtidas de acôrdo com Brody (2), subtraindo-se os logaritmos naturais de dois valores consecutivos e multiplicando-se a diferença por 100.

a inoculação, quando apresentaram uma média de 4,4 por cento. A porcentagem dêstes parasitos foi aumentando progressivamente até atingir o máximo de 18 por cento aos 41 dias depois de inoculados, decrescendo daí por diante numa

escala progressiva até o 63.º dia; daí por diante, os parasitos se tornaram raríssimos e mesmo ausentes. Não foi encontrada grande variação entre os animais durante o curso da moléstia; o maior número foi de 32,6 por cento num animal, na época da infecção máxima, aos 41 dias após a inoculação.

3. *Volume corpuscular e hemoglobina.*

O volume corpuscular, para os nossos bovinos quando ainda normais, foi em média 37,2 por cento e o teor de hemoglobina, 11,4 gramas por 100 cm³ de sangue. Estes valores não foram alterados sensivelmente até o fim da segunda semana após a inoculação. Da terceira semana em diante, apresentaram uma queda progressiva e constante de ambos os valores, até atingirem o mínimo aos 45 dias. Nesta época, o volume corpuscular baixou a 16 por cento; o teor de hemoglobina acompanhou sistematicamente todo este decréscimo, apresentando o seu teor mínimo também aos 45 dias com 3,4 gramas por 100 cm³ de sangue.

Desta época em diante, ambos os elementos começaram a subir novamente, numa escala praticamente progressiva, até 35,0 por cento e 10,8 gramas, para volume corpuscular e hemoglobina, respectivamente, aos 134 dias, quando quase alcançaram os seus limites normais iniciais. A variação entre os indivíduos foi pequena para ambos os valores, não apresentando oscilações dignas de nota.

4. *Temperatura.*

Não foi muito pronunciada a oscilação da temperatura do corpo; entretanto, a sua ascensão coincidiu com as alterações máximas (positivas ou negativas) dos outros elementos aqui considerados, conforme se vê no Quadro 1 e Fig. 1.

D I S C U S S Ã O

A despeito da escassez de dados sobre reticulócitos, é admitida aqui, para fins de discussão, a não existência de reticulócitos no sangue circulante de bovinos normais (4), (8). No presente trabalho, os resultados coincidem com os dessas referências relativamente ao normal, pois não foram encontrados reticulócitos no sangue dos animais, antes de serem inoculados com sangue portador de ana- e piroplasma. Quanto aos outros elementos — hemoglobina, volume corpuscular e temperatura do corpo — eram todos normais.

Após a inoculação com sangue portador de ana- e piroplasma deu-se, como era de se esperar, a alteração no quadro dos elementos do sangue aqui considerados.

Em correspondência particular, COFFIN refere-se à possibilidade de grande aumento do número de reticulócitos em razão direta ao grau de hemólise. Nossos resultados confirmam esta hipótese: nas plasmoses, a maior porcentagem de reticulócitos ocorreu quatro dias depois do menor teor de hemoglobina e volume corpuscular, parecendo assim haver realmente uma correlação entre a reticulocitemia e o grau de hemólise. A porcentagem máxima de infecção apareceu um

pouco antes (8 dias) da maior reticulocitose, o que poderia se explicar pelo fato de a reação das funções hematopoiéticas se exaltar ao máximo após este ataque às hemátias, conforme sugerem JIMÉNEZ DE ASÚA e col. (8). Como mostram o Quadro 1 e Fig. 1, os reticulócitos praticamente só foram vistos depois que o grau de infecção atingiu o seu auge, e a reticulocitemia máxima apareceu quando o número de parasitos já estava em franco declínio. A queda do volume corpuscular e da hemoglobina progrediu diretamente com o grau de infecção e o máximo de queda evidenciou-se, em média, quatro dias após a maior infecção verificada.

Observou-se ainda uma relação inversa entre a reticulocitemia e a recuperação do teor de hemoglobina e volume corpuscular. Enquanto houve reticulócitos no sangue circulante, o teor de hemoglobina e o volume corpuscular estavam abaixo da taxa normal ou inicial. Entretanto, logo que os reticulócitos desapareceram da circulação, o teor de hemoglobina e o volume corpuscular alcançaram a taxa normal ou inicial. Em face destes dados, parece podermos concluir que a função hematopoiética só se normaliza (e o animal está praticamente restabelecido), quando há ausência de reticulócitos na corrente circulatória.

Examinando os gráficos de JIMÉNEZ DE ASÚA e col. (8), verifica-se que estes autores constataram duas ascensões da reticulocitemia no curso das plasmoses, correspondendo respectivamente à evolução da piro- e à da anaplasnose. Nossos dados não confirmam os destes autores, pois tivemos uma curva de reticulócitos perfeitamente unimodal, coincidindo apenas com a evolução da anaplasnose. Não foi observada, assim, reticulocitemia durante o período piroplásmico. De fato, enquanto os autores argentinos verificaram reticulócitos do 10.º ao 15.º dia após a inoculação e uma segunda elevação do 35.º ao 37.º dia, nós só constatamos *uma* ascensão no 41.º dia. A explicação provável para esta discordância parece residir no fato de o ataque do piroplasma (infecção anterior à do anaplasma) ter sido, em nossos casos, de grau muito brando, além de controlado com emprego de medicação específica, sendo raros os parasitos encontrados. Nossos dados diferem ainda dos desses autores com relação à ausência de reticulócitos por eles verificada em alguns animais durante o curso da moléstia; a reticulocitose foi sempre constante em todos os animais usados no presente trabalho.

1. *Porcentagem de infecção.*

Conforme referência anterior, a infecção piroplásmica se elevou a 1,5 por cento, diferindo assim em parte dos dados de JIMÉNEZ DE ASÚA e col. (8), que observaram mais alta porcentagem de infecção. Diferem ainda quanto ao tempo de aparecimento na corrente circulatória: no caso presente, foram vistos somente depois do 14.º dia, mesmo assim em proporção bastante pequena, ao passo que os autores argentinos relatam o seu aparecimento no 4.º dia, com um grau máximo no 8.º dia (20 parasitos por campo).

O motivo para tal diferença pode ser talvez atribuído, como já foi dito, à medicação usada e, em parte, aos intervalos de determinações. Se as determinações, no caso presente, tivessem sido feitas com maior freqüência nesta fase da piroplasmose, como foi feito para a anaplasnose, talvez a sua primeira ocorrência tivesse sido anterior àquela por nós constatada. Quanto ao seu desaparecimento, os nossos dados aproximam-se dos dos autores argentinos, pois, apesar de os piroplasmas serem raríssimos nos esfregaços, eles foram vistos mesmo após 49 dias.

Para os anaplasmas, os dados de seu aparecimento nos nossos animais parecem coincidir com os dos autores acima citados ⁽⁸⁾, que observaram anaplasmas entre 20 e 30 dias, e com os de SANDERS ⁽¹²⁾, que achou de 29-51 dias. Diferem, porém, dos resultados de REES e HALE ⁽¹¹⁾, que constataram uma média de 10,6 por cento aos 17 dias após a inoculação. Nós os observámos aos 35 dias.

Quanto ao número, enquanto os dados argentinos assinalam uma ocorrência de menos de um parasito por campo, nós constatámos uma média de 4,4 por cento, a qual coincide praticamente com os dados de SANDERS ⁽¹²⁾, isto é, 4,5 por cento, para um animal e 1,6 por cento, para outro. O grau máximo de infecção de JIMÉNEZ DE ASÚA e col. ⁽⁸⁾ foi aos 30-37 dias, com mais de 20 parasitos por campo; a infecção máxima para os nossos casos se verificou aos 41 dias, com 18 por cento. Também estes dados, ao nosso ver, são bastante semelhantes. Entretanto, divergem dos de SANDERS ⁽¹²⁾, que encontrou 25 por cento aos 42 dias e, mais ainda, quando este autor encontrou 50 por cento aos 59 dias e nós, 0,5 por cento. Diferem também dos resultados de REES e HALE ⁽¹¹⁾, que encontraram uma porcentagem máxima de 11,9 por cento aos 30 dias. No presente trabalho, o desaparecimento dos anaplasmas se verificou praticamente depois de 67 dias, enquanto que nos casos argentinos, foi aos 85 dias.

Estas variações numéricas de autor para autor não nos parecem de maior importância, sendo esperadas em quaisquer doenças infecto-parasitárias, dependendo naturalmente de numerosos fatores, entre os quais o grau de virulência das amostras e o grau de resistência dos animais usados.

2. *Volume corpuscular e hemoglobina.*

Nossos valores sobre volume corpuscular normal estão dentro da variação encontrada por FERGUSON ⁽⁵⁾, cujos dados são citados na introdução deste estudo, embora nossa média seja igual ao limite superior da oscilação encontrada por esse autor. Difere ainda muito do valor médio verificado por BODDIE e HOLMAN ⁽¹⁾ e ⁽⁷⁾, que foi de 28 por cento.

Não encontramos referências sobre o comportamento do volume corpuscular na anaplasnose. Achamos este dado, de grande valor informativo quanto ao grau de anemia, mais valioso talvez que a simples determinação numérica de hemá-

tias. Aliás, em outro trabalho nosso sobre anemia de leitões⁽⁹⁾, vimos verificando precisamente o mesmo. No caso presente, êsse elemento informou claramente sobre a evolução da doença, acompanhando paralela e inversamente o grau da infecção, decrescendo à medida que êste cresce e crescendo à medida que o animal caminhava para a convalescença. A queda máxima do volume corpuscular ocorreu 4 dias após a maior porcentagem de infecção. Seria êste o prazo necessário para a evolução dos anaplasmas dentro das hemátias, acarretando a sua hemólise? E' uma hipótese baseada nestes dados e que nos parece digna de maior investigação.

Quanto à hemoglobina, os dados que juntámos ao volume corpuscular como elementos comparativos (Quadro 1 e Fig. 1) evidenciam que a hemoglobina acompanhou *pari passu* as variações do volume corpuscular.

RESUMO E CONCLUSÕES

O autor, estudando quatro bovinos Holandeses importados e submetidos à premunição, achou os seguintes resultados:

Não foram encontrados reticulócitos no sangue dos animais antes da inoculação de sangue parasitado por ana- e piroplasmas, tendo-se verificado o seu aparecimento 41 dias depois da inoculação, numa proporção de 2,5 por cento. O seu máximo de 7 por cento foi atingido aos 49 dias após a inoculação, decrescendo progressivamente daí por diante. Além de reticulócitos, foram encontradas outras formas jovens de hemátias.

Não houve evidência de reticulocitemia na piroplasmose; mas foi positivamente constatada na anaplasmosse. Houve indicação de uma relação estreita entre a reticulocitemia e o grau de hemólise na piro- e anaplasmosse.

O aparecimento de reticulócitos no sangue circulante de bovinos inoculados com piro- e anaplasmas parece ser um indício de reconstituição hematopoiética. A curva de porcentagem de reticulócitos demonstrou ser um excelente índice da reação do organismo; assim, o autor sugere ser a determinação da porcentagem de reticulócitos incluída na rotina dos trabalhos de premunição.

Não foi constatada a existência, no sangue, de parasitos nos primeiros 14 dias após a inoculação com sangue parasitado e somente aos 21 dias foram observados raros piroplasmas. O aparecimento dos anaplasmas só ocorreu aos 35 dias após a inoculação numa freqüência de 4,4 por cento, tendo atingido o máximo de 18 por cento aos 41 dias após a inoculação. Os anaplasmas decresceram, então, até o 63.º dia, tornando-se raríssimos daí por diante.

A média do volume corpuscular e a do teor de hemoglobina, antes da inoculação com sangue parasitado, foram de 37,2 por cento e 11,4 gramas por 100 cm³ de sangue, respectivamente. Da terceira semana em diante ambos apresentaram uma queda progressiva e constante, tendo-se verificado a redução máxima aos 45 dias após a inoculação. O volume corpuscular mínimo foi 16 por cento

e a hemoglobina, 3,4 gramas por 100 cm³ de sangue. Do 45.^o dia em diante, ambos começaram a subir, atingindo 35 por cento e 10,8 gramas, respectivamente, aos 134 dias.

O volume corpuscular acompanhou sistematicamente a variação do teor de hemoglobina. Há indicação de uma correlação negativa entre cada um destes elementos e porcentagem de infecção. O autor sugere que o volume corpuscular seja adicionado à contagem de hemátias nos trabalhos de rotina da premunicação.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

The author, studying four animals of Dutch origin imported and immunized against tick fever found the following facts:

No reticulocytes were found in the blood of these animals before they were inoculated with blood containing ana- and piroplasmae. The reticulocytes were detected 41 days after the inoculation in an amount of 2.5 reticulocytes per hundred erythrocytes. The maximum was seven per cent on the 49th day after inoculation decreasing progressively from this time on. Beside reticulocytes other young forms of red blood cells were seen.

No evidence of reticulocytemia was found during the tick fever but it was markedly positive during the anaplasmosis. There was indication of a close relationship between reticulocytemia and the degree of hemolysis in the piro- and anaplasmosis.

The appearance of reticulocytes in the circulating blood of these animals after they were inoculated with infectious blood seems to be an indication of the rebuilding of haematopoiesis. The reticulocyte curve showed that it may be an excellent sign of the reaction of the animal organism, and so the author suggests that the determination of the percentage of reticulocytes should be included as a routine practice in the work of immunization.

No parasites were detected in the blood during the first 14 days following inoculation and only on the 21st day there were rare piroplasmae. The anaplasmae occurred only on the 35th day following inoculation in the proportion of 4.4 per cent; their maximum appearance was 18 per cent on the 41st day and then they decreased to the 63rd day and became very rare from that day on.

The average of the corpuscular volume and the amount of hemoglobin per 100 cm³ were 37.2 per cent and 11.4 gr respectively. From the third week on both of them showed a progressive and continuous decrease, with the greatest reduction on the 45th day after inoculation. The lowest value for corpuscular volume was 16.0 per cent and that for hemoglobin was 3.4 gr per 100 cm³ of blood. From the 45th day on they rose and reached 35 per cent and 10.8 gr per 100 cm³, respectively, on the 134th day.

The corpuscular volume followed closely the changes of the hemoglobin content. There was an indication of a negative correlation between degree of in-

fection and each of these elements. The author suggests that the corpuscular volume should be added to the red blood cells counting in the routine work of immunization.

AGRADECIMENTOS

Queremos deixar testemunhados aqui os nossos agradecimentos ao Sr. Geraldo G. Carneiro, da Divisão de Experimentação Animal; Dr. Nello de Moura Rangel, da Escola Superior de Veterinária; Dr. David L. Coffin, do Angell Memorial Animal Hospital, Boston, Mass., pela valiosa orientação no campo da hematologia animal. Somos gratos ainda aos Drs. A. Junqueira, neto, e J. B. Figueiredo, pela cessão dos dados e auxílio na sua comparação. Queremos fazer uma menção especial aos auxiliares de laboratório, Srs. Silvio Miguel e Itair Pinto, cuja dedicação ao trabalho facilitou enormemente o nosso desideratum.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BODDIE, G. F. — HOLMAN, H. H. — 1944 — Diagnostic methods in veterinary medicine. London, Oliver and Boyd Ltd.
- 2 — BRODY, S. — 1945 — Bionergetics and growth: 505. New York, Reinhold Publishing Corporation.
- 3 — CARNEIRO, G. G. — MACHADO, A. V. — Variações no quadro hematológico de bovinos holandeses importados, submetidos à premunição. Não publicado.
- 4 — COFFIN, D. D. — 1945 — Manual of veterinary clinical pathology. Ithaca, Comstock Publishing Co. Inc.
- 5 — FERGUSON, L. C. — 1937 — Studies on bovine blood. I. The sedimentation rate and percentage volume of erythrocytes in normal blood. *J.A.V.M.A.*, 44(2): 163-75.
- 6 — HELLER, V. G. — PAUL, H. — 1934 — Change in cell volume produced by varying concentrations of different anticoagulants. *Jour. Lab. and Clin. Med.*, 19(7): 777.
- 7 — HOLMAN, H. H. — 1947 — Studies on the haematology of the horse, ox and sheep. *Proc. R. Soc. Med.*, London, 40(5):185-7.
- 8 — JIMÉNEZ DE ASÚA — DIOS, F. R. L. — SUCCARINI, J. A. — KHUN, M. J. — 1928 — Estudios sobre "Tristeza" (piroplasmosis y anaplasmosis bovina). *Rev. Inst. Bact. Dep. Nac. Hig.*, Bs. Aires, 5(2):251-330.
- 9 — MACHADO, A. V. e col. — Anemia de leitões. Trabalho em andamento.
- 10 — RANGEL, N. M. — Quadro hematológico em "Bos indicus". Comunicação verbal.
- 11 — REES, C. W. — HALE, M. W. — 1936 — Morphological and chemical studies of the blood of cattle in health and during anaplasmosis. *Jour. Agric. Res.*, 53(7): 477-92.
- 12 — SANDERS, D. A. — 1933 — Notes on the experimental transmission of bovine anaplasmosis in Florida. *J.A.V.M.A.*, 36(6):799-805.
- 13 — SMITH, T. — KILBORNE, F. L. — 1893 — Investigations in to the nature, causation, and prevention of Texas or southern cattle fever. *U. S. Dept. Agric.*, B. A. I., Bull. n.º 1.
- 14 — TODD, J. C. — SANFORD, A. H. — 1943 — Clinical diagnosis by laboratory methods. 10th ed. Philadelphia, W. B. Saunders Co.