

## **Caracterização morfológica e citoquímica de células sanguíneas de rapinantes da ordem Accipitriformes apreendidos ou resgatados no bioma Mata Atlântica do Rio de Janeiro (sudeste do Brasil).**

**Morphological and cytochemical description of blood cells from raptors of the order Accipitriformes, apprehended or rescued in the Atlantic Forest biome of Rio de Janeiro (southeastern Brazil).**

**Descripción de la morfología y citoquímica de células sanguíneas de aves rapaces del orden Accipitriformes capturadas o rescatadas en el bioma de la Mata Atlántica de Río de Janeiro (sureste de Brasil).**

Recebido: 04/07/2022 | Revisado: 19/07/2022 | Aceito: 22/07/2022 | Publicado: 28/07/2022

### **Sabrina Toledo de Araujo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0542-4577>  
Universidade Federal Fluminense, Brasil  
E-mail: [sabrinavet.silvestres@yahoo.com.br](mailto:sabrinavet.silvestres@yahoo.com.br)

### **Sabrina Destri Emmerick Campos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2703-3211>  
Universidade Federal Fluminense, Brasil  
E-mail: [s.destri@gmail.com](mailto:s.destri@gmail.com)

### **Daniele Mello Cunha**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0066-0714>  
Universidade Federal Fluminense, Brasil  
E-mail: [danielemcunha@uol.com.br](mailto:danielemcunha@uol.com.br)

### **Jeferson Rocha Pires**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6649-0418>  
Universidade Estácio de Sá, Brasil  
E-mail: [jefveterinario@gmail.com](mailto:jefveterinario@gmail.com)

### **Augusto Cesar Aguiar Pimentel Junior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3873-6609>  
Centro de diagnóstico veterinário Augusto Pimentel, Brasil  
E-mail: [acpimenteljr@hotmail.com](mailto:acpimenteljr@hotmail.com)

### **Helena Keiko Toma**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3203-5369>  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: [hktoma@globo.com](mailto:hktoma@globo.com)

### **Aline Moreira de Souza**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6140-5074>  
Universidade Federal Fluminense, Brasil  
E-mail: [alinems@id.uff.br](mailto:alinems@id.uff.br)

### **Nádia Regina Pereira Almosny**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7043-0717>  
Universidade Federal Fluminense, Brasil  
E-mail: [nadiaalmosny@id.uff.br](mailto:nadiaalmosny@id.uff.br)

## **Resumo**

Foram analisadas as características morfológicas e citoquímicas das células sanguíneas de 14 acipitrídeos de vida livre apreendidos ou resgatados no bioma Mata Atlântica do Rio de Janeiro. Este estudo foi conduzido utilizando duas técnicas de coloração citoquímica, a peroxidase (PER) e o sudan black B (SBB). Para análise morfológica, extensões sanguíneas coradas foram avaliadas em microscopia óptica. Até onde sabem os autores, este foi o primeiro estudo sobre morfologia de células sanguíneas em *Parabuteo unicinctus* e o primeiro a avaliar citoquimicamente as células sanguíneas dessa espécie e de *Rupornis magnirostris*. Quanto à morfologia constatou-se que as células sanguíneas dos animais avaliados foram similares às de outros acipitrídeos. Heterófilos foram os leucócitos mais prevalentes, sendo também observados eosinófilos e linfócitos em valores expressivos. Apenas os eosinófilos de *P. unicinctus* apresentaram reação positiva para PER e SBB. Os exemplares de *R. magnirostris* apresentaram eosinófilos com reação positiva somente para SBB. Os demais leucócitos tiveram resultados negativos para PER e SBB. Concluiu-se

que as características morfológicas e citoquímicas das células sanguíneas de *P. unicinctus* e de *R. magnirostris* são semelhantes às de outros acipitrídeos, exceto os eosinófilos, que diferem bioquimicamente. Nesse contexto, o presente estudo das técnicas citoquímicas pode fornecer uma base de dados importante a ser acessada em futuras pesquisas, inclusive sobre a influência da composição dos eosinófilos na função dessas células em rapinantes.

**Palavras-chave:** Aves de rapina; Hematologia; Morfologia celular; Peroxidase; Sudan black B.

#### Abstract

Morphological and cytochemical characteristics of the blood cells of 14 free-living accipitrids seized or rescued in the Atlantic Forest biome of Rio de Janeiro were analyzed. This study was conducted using two cytochemical staining techniques, peroxidase (PER) and Sudan black (SBB). For morphological analysis, stained blood smears were evaluated under optical microscopy. To the best of the authors' knowledge, this was the first study on blood cell morphology in *Parabuteo unicinctus* and the first to cytochemically evaluate blood cells from this species and from *Rupornis magnirostris*. As for morphology, it was found that blood cells of the evaluated animals were similar to those of other accipitrids. Heterophils were the most prevalent leukocytes. Eosinophils and lymphocytes were also observed in expressive values. Only the eosinophils of *P. unicinctus* showed a positive reaction to PER e SBB. The specimens of *R. magnirostris* showed eosinophils with positive reaction only for SBB. The other leukocytes had negative results for both PER and SBB. It was concluded that the morphological and cytochemical characteristics of *P. unicinctus* and *R. magnirostris* blood cells are similar to those of other accipitrids, except for eosinophils, which differ biochemically. In this context, the present study of cytochemical techniques can provide an important database to be accessed in future research, including the influence of eosinophil composition on the function of these cells in predators.

**Keywords:** Birds of prey; Hematology; Cell morphology; Peroxidase; Sudan black B.

#### Resumen

Se analizaron las características morfológicas y citoquímicas de las células sanguíneas de 14 aves rapaces silvestres, capturadas o rescatadas en el bioma de la Mata Atlántica de Río de Janeiro. Este estudio se realizó utilizando dos técnicas de tinción citoquímica, peroxidasa (PER) y Sudán negro B (SBB). Para la morfología, las muestras de sangre se tiñeron con colorante rápido y se evaluaron bajo microscopía de luz. Según el conocimiento de los autores, este fue el primer estudio sobre la morfología de las células sanguíneas en *Parabuteo unicinctus* y el primero en evaluar la citoquímica de las células sanguíneas de esta especie y de *Rupornis magnirostris*. Se encontró que las células sanguíneas de los animales evaluados eran similares a las de otras aves de la misma familia. Los heterófilos fueron los leucocitos más frecuentes, y los eosinófilos y linfocitos también se observaron en valores expresivos. Solo los eosinófilos de *P. unicinctus* mostraron una reacción positiva a PER y SBB. *Rupornis magnirostris* tuvieron eosinófilos positivos solo para SBB. El resto de leucocitos fueron negativos para PER y SBB. Nuestros resultados muestran que las características morfológicas y citoquímicas de las células sanguíneas de *P. unicinctus* y *R. magnirostris* son similares a las de otras aves de la misma familia; sin embargo, los eosinófilos difieren bioquimicamente. En este contexto, nuestros resultados de técnicas citoquímicas generaron datos importantes a la que acceder en futuras investigaciones, incluso sobre la influencia de la composición de eosinófilos en la función de estas células en los depredadores.

**Palabras clave:** Aves rapaces; Hematología; Morfología celular; Peroxidasa; Sudán negro B.

## 1. Introdução

A ordem Accipitriformes é composta por rapinantes que possuem hábitos diurnos. Tais aves podem ser observadas em diversas regiões do planeta, sendo possível encontrar com certa frequência algumas espécies em áreas periurbanas. As aves de rapina pertencentes a esta ordem são distribuídas em três famílias: Sagittariidae, Pandionidae e Accipitridae, sendo a última a mais numerosa (Menq, 2018; Sick, 1997) e que reúne as espécies avaliadas no presente trabalho. Embora escassos, estudos sobre hematologia em rapinantes ganharam mais importância à medida que começaram a ser relacionados com questões de conservação de espécies ameaçadas (Limiñana et al., 2009; Tomé et al., 2005).

A hematologia é um meio de avaliação clínica muito profícuo na clínica da fauna selvagem, incluindo as aves, sendo uma ferramenta de diagnóstico indispensável para avaliar o estado de saúde dos indivíduos, monitorar a evolução de uma doença, avaliar a eficácia do protocolo terapêutico e proporcionar um prognóstico adequado (Samour, 2015). Em termos gerais, as aves apresentam hemácias de formato elíptico e que preservam o núcleo, leucócitos e trombócitos (Campbell, 2010). Os leucócitos são compostos por cinco tipos celulares, sendo classificados como granulócitos, grupo que engloba heterófilos, eosinófilos e basófilos e os agranulócitos, o qual inclui linfócitos e monócitos. Apesar dos eritrócitos serem maiores do que os

dos mamíferos, existe grande variação interespecífica. As diversidades impostas por inúmeros biomas que as aves habitam refletem diretamente na variação fisiológica entre as espécies aviárias. Devido a isso é possível que existam ainda muitas características hematológicas espécie-específicas não totalmente desvendadas (Clark et al., 2009).

As colorações citoquímicas diferem das colorações da rotina laboratorial, sendo usadas para detectar componentes químicos das células sanguíneas por meio de reações que culminam com cores específicas perceptíveis à microscopia óptica, propiciando melhor entendimento do funcionamento dessas células. Também possibilitam a distinção de linhagens celulares, sendo úteis no diagnóstico de malignidades hematopoiéticas, além de fornecer informações sobre os processos metabólicos da célula viva (Jain, 1986; Tavares-Dias, 2006).

Dado o potencial elucidativo das colorações citoquímicas na avaliação laboratorial de animais silvestres, o objetivo do presente estudo foi avaliar e relatar as características morfológicas e citoquímicas das células sanguíneas de acipitrídeos das espécies *Rupornis magnirostris* e *Parabuteo unicinctus*, apreendidos ou resgatados, no bioma Mata Atlântica do Rio de Janeiro (sudeste do Brasil).

## 2. Metodologia

### 2.1 Declaração ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal Fluminense sob nº 8536200618.

### 2.2 Colheita de Amostras

Para este estudo, rapinantes das espécies *Rupornis magnirostris* e *Parabuteo unicinctus*, sem sinais clínicos de doença, apreendidos ou resgatados no centro de reabilitação de vida selvagem da Universidade Estácio de Sá, município do Rio de Janeiro, Brasil (22° 58' 46" S, 43° 27' 24" W) foram avaliados entre março e outubro de 2019. As aves foram incluídas neste estudo, independentemente da idade e sexo.

Usando contenção física, amostras de sangue foram colhidas da veia jugular utilizando agulha 20 X 0,55mm e seringa de 3mL e o sangue total (volume = 0,5mL) foi acondicionado em tubos para coleta de pequenos volumes (BD Microtainer, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). No momento da amostragem, os animais foram examinados por procedimentos não invasivos de rotina, acerca de certificar a ausência de manifestações clínicas. Foram confeccionados seis esfregaços sanguíneos de cada animal, para a realização das análises morfológicas e citoquímicas.

### 2.3 Colorações para análise morfológica e citoquímica

Para análise morfológica de rotina, as extensões sanguíneas foram coradas de acordo com as técnicas laboratoriais habituais, utilizando a coloração de Romanowsky (Instant Prov®, Newprov, Pinhais, Paraná, Brasil) (Clark et al., 2009). Após completamente secos, os esfregaços foram avaliados por meio de microscopia óptica padrão, em objetiva de imersão (aumento de 1000x) (Opticam Microscopy Technology, São Paulo, SP, Brasil).

Para análise citoquímica, foram utilizadas duas técnicas de coloração, uma empregando a benzidina (Sigma-Aldrich Brasil Ltda®, São Paulo, São Paulo, Brasil), gerando uma reação enzimática que tem a finalidade de identificar a peroxidase, e outra utilizando o corante lipofílico denominado Sudan Black B (Dinâmica Química Contemporânea Ltda®, Indaiatuba, SP, Brasil), que promove uma reação não enzimática que culmina na identificação de fosfolipídios.

A coloração da peroxidase (PER) pelo método de benzidina foi realizada conforme Jain (1986), sem necessidade de fixação química prévia. Assim, sobre os esfregaços sanguíneos foi colocada a solução preparada de benzidina (100mL de água

destilada, 1g de benzidina e 3 gotas de peróxido de hidrogênio 3%) deixando-a agir durante 30 segundos. Em seguida foi acrescentada água destilada até formar um “colchão” sobre o esfregaço, durante dois minutos, e posteriormente, lavou-se delicadamente cada lâmina com água por cinco minutos. Após estarem secos, os esfregaços foram contra corados utilizando corante hematológico acima descrito.

A coloração de Sudan Black B (SBB) foi realizada conforme proposta por Ranzani Paiva et al. (2013). Para tal, a amostra foi previamente fixada por cinco segundos em etanol 70% e depois colocada em SBB por 60 minutos. Após esse tempo os esfregaços foram lavados em etanol 70% e, por fim, enxaguados em água corrente por 5 minutos. Em seguida, procedeu-se a recoloração com hematoxilina (EasyPath Diagnósticos®, Indaiatuba, SP, Brasil) por 3 minutos.

Extensões sanguíneas de cães foram utilizadas como controle positivo para assegurar a correta funcionalidade dos corantes e reação às colorações de PER e SBB. Por meio da microscopia óptica padrão, foram avaliadas 500 células de cada esfregaço, para diferenciar as células com marcação positiva e as células negativas em cada um dos dois métodos citoquímicos.

### 3. Resultados

#### 3.1 Análise morfológica de rotina

Durante esse estudo, 14 Accipitriformes foram avaliados, correspondendo a duas espécies distintas, sendo dez aves da espécie *Rupornis magnirostris* (gavião-carijó) e quatro da espécie *Parabuteo unicinctus* (gavião-asa-de-telha). Todas as aves apresentavam-se clinicamente saudáveis no momento da amostragem.

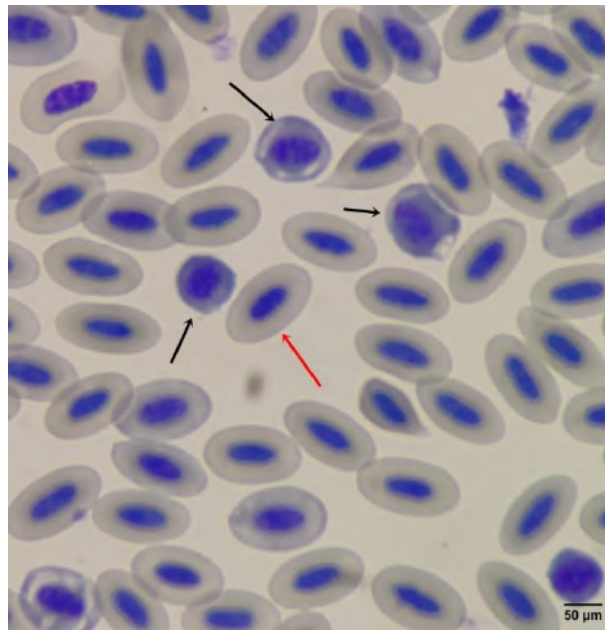
Durante a avaliação das células sanguíneas, foram evidenciadas hemácias maduras, as quais possuíam formato elíptico, citoplasma abundante, de coloração alaranjada a acinzentada, núcleo único e localizado no centro da célula, de formato também elíptico, acompanhando assim o formato da hemácia. O núcleo das hemácias maduras apresentou cromatina de aspecto denso e coloração azulada a púrpura. Foram evidenciados também alguns precursores eritrocitários em diferentes graus de maturação. Estes incluíram células menores do que as hemácias maduras, de formato esférico a arredondado, citoplasma mais basofílico, núcleo mais arredondado e cromatina pouco compactada (Figura 1).

Os heterófilos foram os leucócitos mais observados nas aves estudadas e apresentavam formato tendendo ao arredondado, núcleo bi ou trilobulado basofílico, citoplasma claro ou incolor, contendo grânulos eosinofílicos de aspecto fusiforme ou em forma de bastão (Figura 2).

Os eosinófilos foram o segundo tipo de leucócito mais visualizado nas extensões sanguíneas dos animais avaliados. Num primeiro momento, os eosinófilos podem apresentar morfologia bastante semelhante aos heterófilos, razão pela qual a sua diferenciação pode ser difícil e merece atenção. Os eosinófilos também apresentaram formato arredondado e núcleo lobulado. Contudo, observou-se citoplasma ligeiramente mais basofílico e grânulos eosinofílicos redondos (Figura 3).

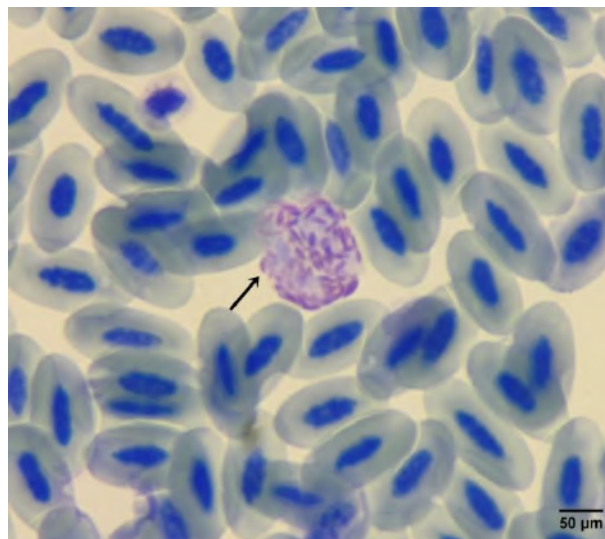
Não foram observados basófilos nos acipitrídeos avaliados.

**Figura 1:** Fotomicrografia de extensão sanguínea de *Parabuteo unicinctus*. Eritrócito maduro com formato elíptico (seta vermelha) e precursores eritroblastos com formato arredondado e citoplasma basofílico (setas pretas). Coloração hematológica instantânea, aumento de 1000x.



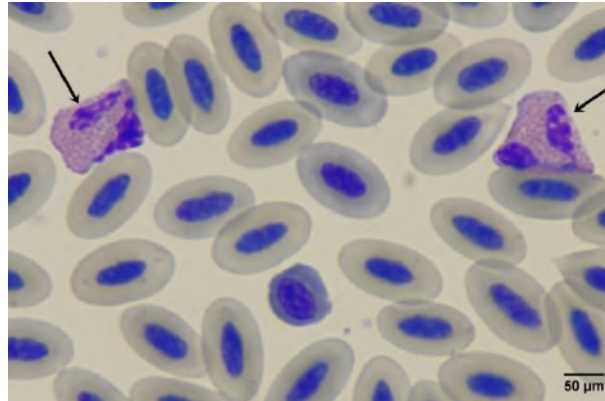
Fonte: Autores.

**Figura 2:** Fotomicrografia de extensão sanguínea de *Rupornis magnirostris*. Heterófilo com núcleo lobulado basofílico e citoplasma incolor contendo grânulos eosinofílicos fusiformes. Coloração hematológica instantânea, aumento de 1000x.



Fonte: Autores.

**Figura 3:** Fotomicrografia de extensão sanguínea de *Parabuteo unicinctus*. Eosinófilos com formato mais arredondado com núcleo lobulado basofílico e grânulos redondos eosinofílicos. Coloração hematológica instantânea, aumento de 1000x.

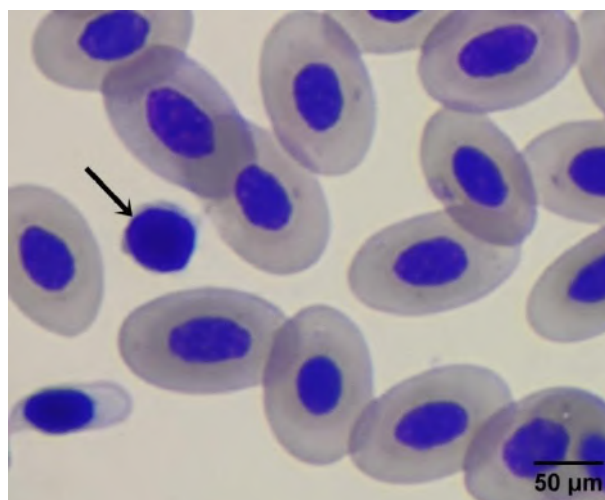


Fonte: Autores.

Quanto aos agranulócitos, os linfócitos possuíam formato redondo de tamanho variável, núcleo posicionado centralmente ou ligeiramente excêntrico, de cromatina densa, coloração roxa e citoplasma escasso e arroxeadado (Figura 4). Constatou-se que existem pelo menos duas populações de linfócitos. Os pequenos linfócitos apresentaram cromatina fortemente condensada e relação núcleo/citoplasma bastante elevada, podendo, na maioria das vezes, serem associados a linfócitos reativos. Já os grandes linfócitos apresentaram diminuição da relação núcleo/citoplasma, podendo eventualmente ser confundidos com monócitos.

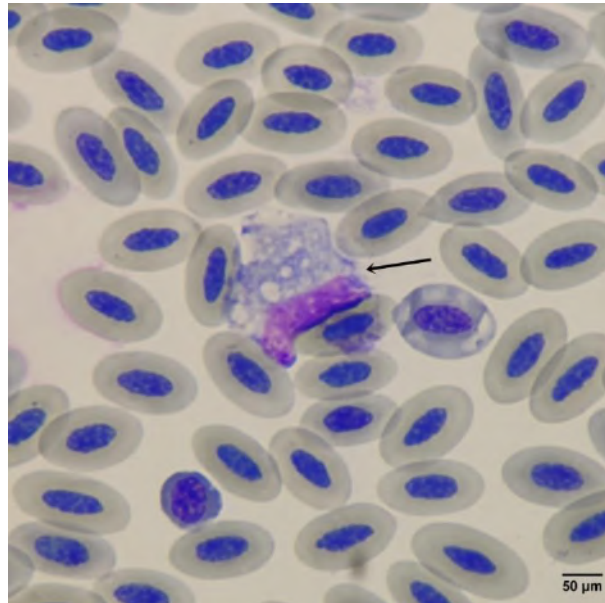
Os monócitos foram as maiores células leucocitárias observadas ao esfregaço sanguíneo, apresentando núcleo grande, basofílico, central variando a excêntrico e cromatina frouxa. O citoplasma mostrou-se mais abundante, de aspecto rendilhado e basofílico, por vezes, exibindo vacuolização. Em relação à morfologia celular, os monócitos apresentaram formato mais variável, sendo na maioria das vezes do tipo ameboide ou amorfo (Figura 5).

**Figura 4:** Fotomicrografia de extensão sanguínea de *Rupornis magnirostris*. Linfócito com formato redondo de tamanho variável, apresentando núcleo com cromatina agregada e central de coloração roxa e citoplasma escasso. Coloração hematológica instantânea, aumento de 1000x.



Fonte: Autores.

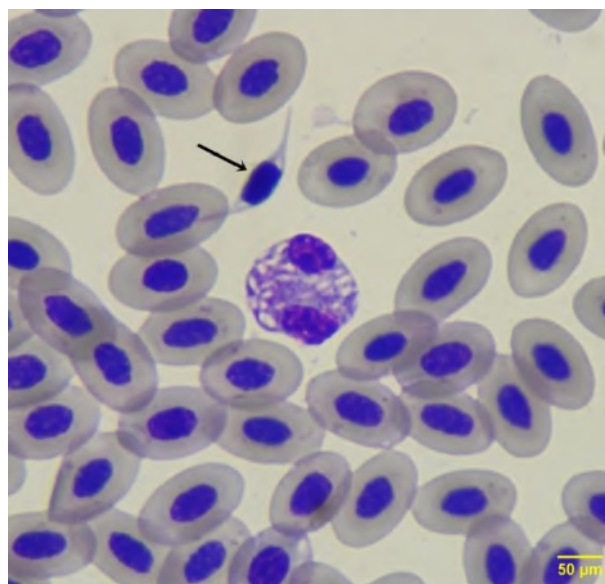
**Figura 5:** Fotomicrografia de extensão sanguínea de *Parabuteo unicinctus*. Monócito com núcleo excêntrico basofílico, de cromatina mais frouxa, com citoplasma muito mais abundante basofílico e com vacúolos. Coloração instantânea (Newprov®), aumento de 1000x.



Fonte: Autores.

Os trombócitos foram identificados como sendo células pequenas, de formato oval ou alongado e núcleo arredondado, o qual possuía cromatina densa fortemente basofílica. Estas células também apresentaram alta relação núcleo/citoplasma, sendo por vezes difícil a distinção dos pequenos linfócitos. Nesse contexto, citoplasma incolor, presença do aparelho de Golgi e eventualmente vacúolos foram características úteis na diferenciação celular (Figura 6).

**Figura 6:** Fotomicrografia de extensão sanguínea de *Rupornis magnirostris*. Trombócito com formato oval ou alongado com núcleo denso roxo e citoplasma incolor. Coloração hematológica instantânea, aumento de 1000x.



Fonte: Autores.

### 3.2 Análise citoquímica

Os resultados das análises citoquímicas obtidos nesse estudo encontram-se apresentados nas Tabelas 1 (*P. unicinctus*) e 2 (*R. magnirostris*).

**Tabela 1:** Resultados da análise citoquímica de peroxidase (PER) e sudan black (SBB) em *Parabuteo unicinctus* resgatados no bioma Mata Atlântica do Rio de Janeiro em 2019.

Tipo de célula	PER	SBB
<i>Heterófilo</i>	-	-
<i>Eosinófilo</i>	+	+
<i>Monócito</i>	-	-
<i>Linfócito</i>	-	-
<i>Trombócito</i>	-	-

Fonte: Autores.

**Tabela 2:** Resultados da análise citoquímica de peroxidase (PER) e sudan black (SBB) em *Rupornis magnirostris* resgatados no bioma Mata Atlântica do Rio de Janeiro em 2019.

Tipo de célula	PER	SBB
<i>Heterófilo</i>	-	-
<i>Eosinófilo</i>	-	+
<i>Monócito</i>	-	-
<i>Linfócito</i>	-	-
<i>Trombócito</i>	-	-

Fonte: Autores.

Utilizando a técnica da benzidina foi observado que os eosinófilos das aves da espécie *P. unicinctus* (gavião-asa-de-telha) foram fortemente positivos, apresentando grânulos de coloração cinza, demonstrando a presença de mieloperoxidase em seus grânulos (Tabela 1). As demais células apresentaram reação negativa para peroxidase, assim como todas as células sanguíneas das aves da espécie *R. magnirostris* (gavião-carijó). Eosinófilos de ambas as espécies estudadas foram positivos para SBB, exibindo grânulos que se apresentaram com coloração cinza. Os demais tipos celulares da linhagem sanguínea apresentaram-se negativos para SBB (Tabela 2).

## 4. Discussão

Para a análise hematológica de rotina, o presente estudo seguiu as diretrizes previamente estabelecidas, baseando-se no fato de que os esfregaços sanguíneos são comumente corados com corantes do tipo Romanowsky, os quais caracteristicamente conferem uma cor basofílica aos ácidos nucleicos e grânulos citoplasmáticos de basófilos e uma cor eosinofílica ao citoplasma contendo hemoglobina e aos grânulos citoplasmáticos de heterófilos e eosinófilos (Clark et al., 2009).

Constatou-se que as hemácias maduras das espécies de aves estudadas não diferiram de outras aves já relatadas, sendo maiores do que na maioria dos mamíferos (Mitchell & Johns (2008)). Uma vez que o tempo de vida das hemácias aviárias é relativamente mais curto e a eritropoiese é mais intensa, é possível observar diferentes estágios de maturação ao esfregaço sanguíneo (Mitchell & Johns (2008)), fato observado durante o presente estudo, mesmo em animais sem manifestações clínicas



aparentes.

Os achados morfológicos dos leucócitos sanguíneos dos exemplares de *R. magnirostris* observados no presente estudo foram semelhantes aos descritos por Santos et al. (2017), que relataram heterófilos esféricos, com núcleo lobulado e presença de grânulos fusiformes nessa espécie. Capitelli e Crosta (2013) de forma semelhante, já haviam descrito heterófilos de outras aves como células redondas com núcleo lobulado e grânulos em forma de bastão. Entretanto, Clark et al. (2009) reportaram heterófilos com menos grânulos tanto em número quanto em densidade, de formato redondo e basofílico com núcleo hiposegmentado em aves que apresentaram bacteremia, divergindo das aves do presente trabalho, o que era esperado e corrobora com estudos prévios, uma vez que foram amostradas apenas aves clinicamente hígdas.

Quanto aos eosinófilos, foram descritos como células com grânulos esféricos e eosinofílicos em espécies rapineiras dos gêneros *Buteo* e *Accipiter* (Santos et al., 2003) e em *R. magnirostris* (Santos et al., 2017), corroborando com os achados do presente estudo.

Em relação aos leucócitos mononucleares, Capitelli e Crosta (2013) observaram linfócitos redondos com núcleo denso e citoplasma escasso em psitacídeos, morfologia semelhante aos linfócitos observados no presente estudo para as duas espécies de acipitrídeos analisadas. Mitchell e Johns (2008) também descreveram linfócitos com essas características morfológicas e monócitos arredondados com núcleo oval e citoplasma apresentando vacúolos, similar ao observado em ambos acipitrídeos do presente trabalho.

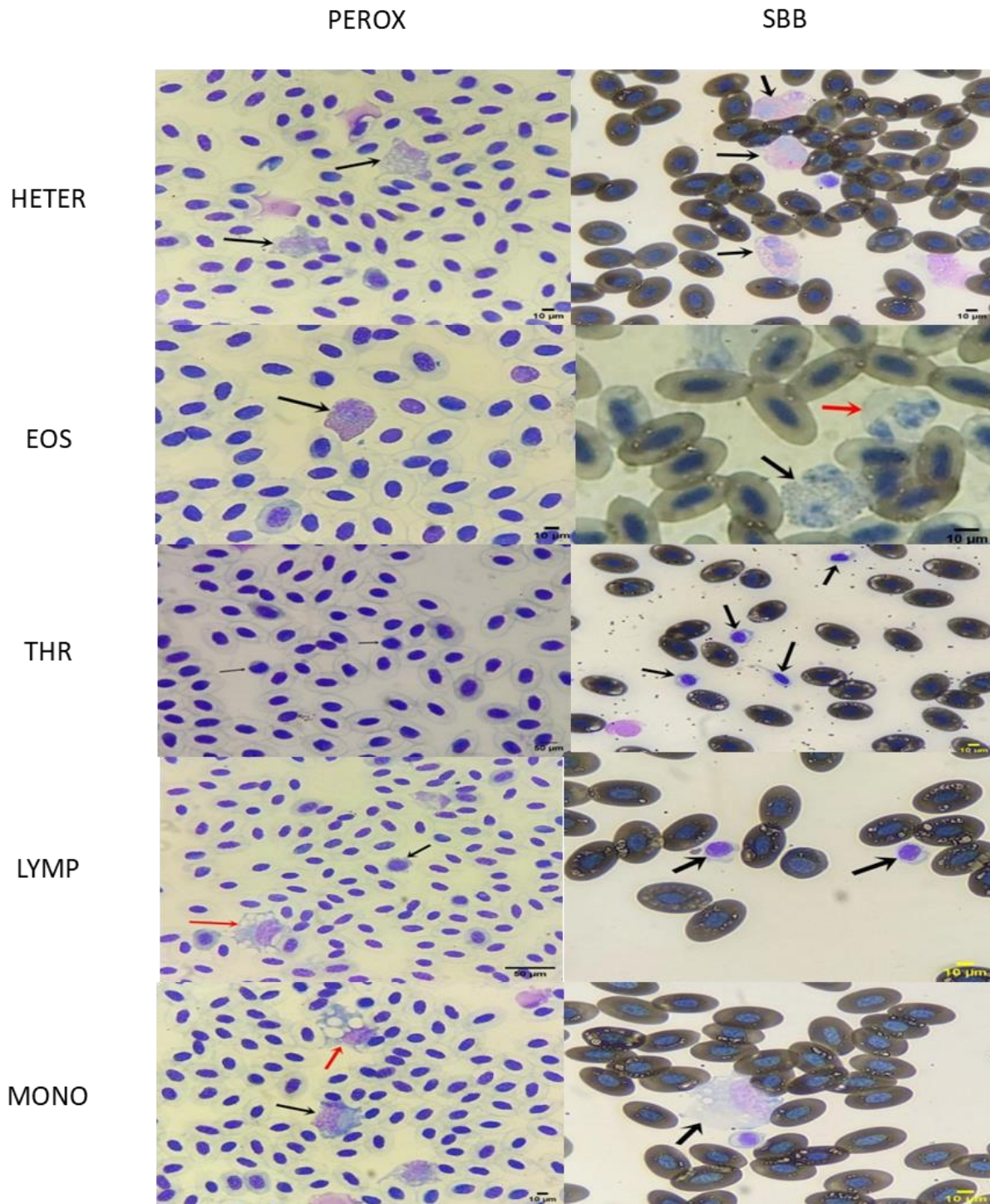
Não foram encontradas informações sobre a morfologia das células sanguíneas das aves da espécie *P. uncinatus* (gavião asa-de-telha), assim como dados citoquímicos das duas espécies estudadas, reforçando a necessidade de mais estudos acerca das características laboratoriais de aves rapina da fauna nacional Brasileira.

No presente estudo, em relação à distribuição dos tipos celulares, ambas as espécies avaliadas apresentaram maior quantidade de heterófilos, seguida por eosinófilos e depois linfócitos. Estudos em outras espécies de acipitrídeos como *Accipiter nisus* (Sengul et al., 2015), *Spilornis cheela* (Salakij et al., 2015), *Elanus caeruleus*, *Haliastur indus* e *Milvus migrans govinda* (Salakij et al., 2019) também descreveram os heterófilos como principal leucócito observado. Salakiji et al (2004) também relataram que os heterófilos foram as células mais encontradas em *Leptoptilos javanicus* (Ajudante-menor) e *Leptoptilos dubius* (Ajudante-maior). Entretanto, em machos da espécie *Mycteria leucocephala* (Cegonha) e em fêmeas e machos de *Accipiter badius*, os linfócitos foram os leucócitos mais prevalentes (Salakij et al., 2003, 2015). Mitchell e Johns (2008) também relataram que papagaio da Amazônia e canários apresentam mais linfócitos, tais diferenças podem ocorrer devido influência alimentar, sazonal ou de nichos ecológicos (Clark et al., 2009).

No contexto hematológico, observar uma população de eosinófilos maior do que a de linfócitos nas aves do presente estudo foi um achado inesperado e interessante, abrindo espaço para um possível papel dos eosinófilos maior do que o relatado até o presente momento.

No estudo citoquímico das células sanguíneas de *R. magnirostris* (gavião-carijó), os eosinófilos apresentaram-se positivos para SBB e essa sudanofilia dos grânulos indica a presença de lipídios, o que também foi observado na espécie *Spilornis cheela* (Salakij et al., 2015). Nessa técnica, ocorre uma reação com células mielóides o que acaba facilitando no diagnóstico de certas malignidades hematopoiéticas (Moreira et al., 2021). Eosinófilos de *R. magnirostris* do presente estudo apresentaram-se negativos para peroxidase. Os outros tipos celulares apresentaram-se negativos para os dois métodos de coloração citoquímica realizados (Figura 7), assim como observado em outras espécies de aves (Salakij et al., 2004, 2019).

**Figura 7:** Resultados da coloração citoquímica de células do sangue periférico de *Rupornis magnirostris*. SBB = coloração de Sudan Black B; PEROX = coloração com peroxidase; HETER = heterófilos; EOS = eosinófilos; THR = trombócitos; LYMP = linfócitos; MONO = monócitos. HETER negativo para PEROX e SBB (seta preta); EOS negativo para PEROX e positivo para SBB (seta preta) e HETER negativo para SBB (seta vermelha). THR negativo para PEROX e SBB (seta preta); LYMP negativo para PEROX e para SBB (seta preta) e monócito negativo com vacúolos evidentes (seta vermelha). MONO negativo para PEROX e para SBB (seta preta) e monócito negativo com vacúolos evidentes (seta vermelha). Ampliação de 1000X.



Fonte: Autores.

No estudo citoquímico das células sanguíneas de *P. uncinctus* (gavião asa-de-telha) os eosinófilos foram positivos

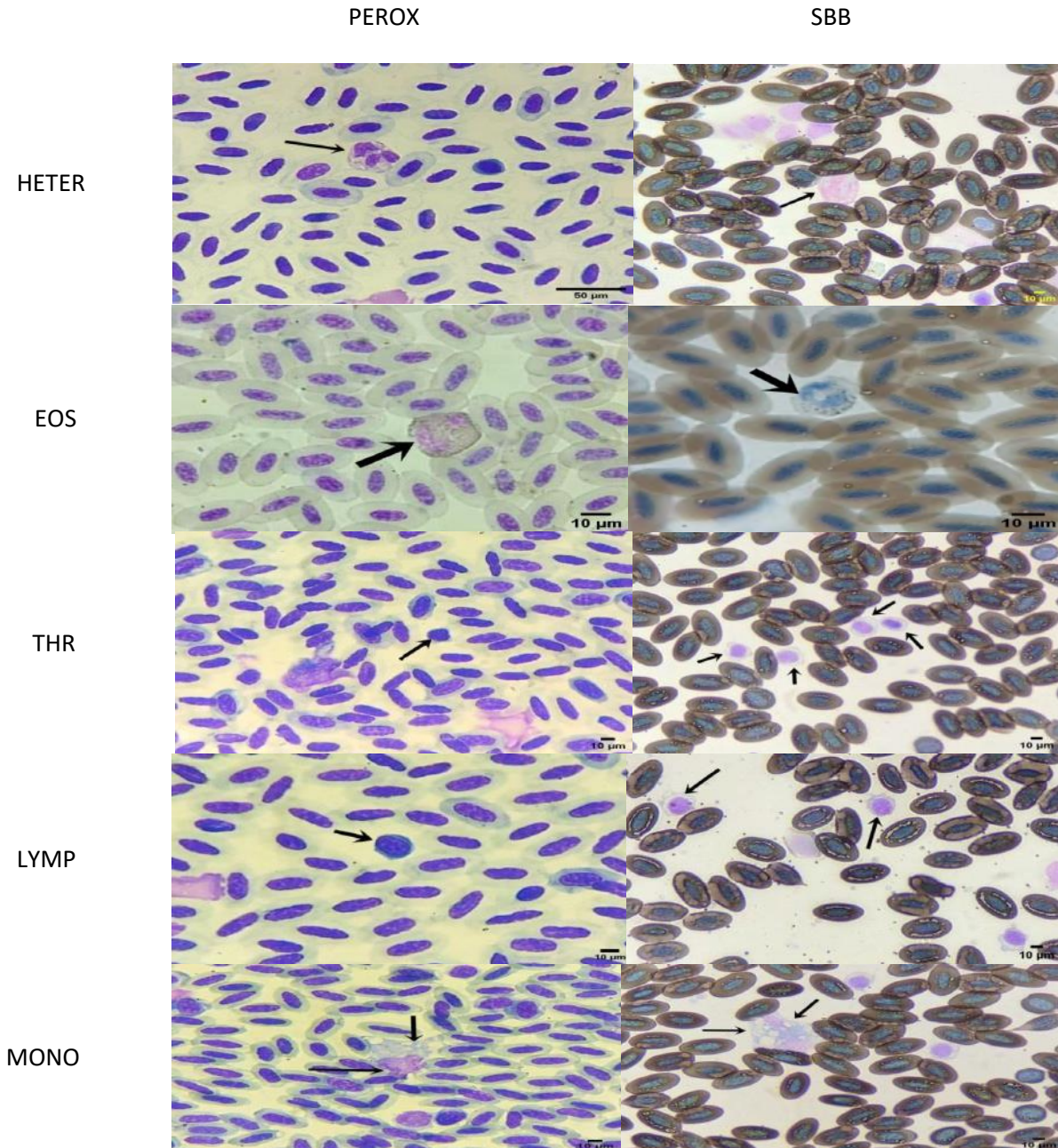
para peroxidase, o que indica que os grânulos possuem mieloperoxidase eosinofílica, fato já descrito por Maxwell (1985) e Montali (1988) em outras aves. No entanto trata-se de uma característica bioquímica que não é atribuída a todas as aves, visto que nesse estudo somente *P. unicinctus* apresentou eosinófilos positivos para peroxidase. Já foi sugerido que exista uma heterogeneidade nas reações das células sanguíneas entre diferentes espécies, assim como mencionado por Salakij et al. (2019) e Chen et al. (2019). Desta forma, é possível que existem diferenças na composição química dos grânulos entre espécies diferentes, fazendo com que algumas espécies possuam leucócitos que reagem e outros que não reagem às colorações citoquímicas.

Em humanos, a mieloperoxidase presente nos grânulos dos eosinófilos tem grande importância na resposta imune inata, pois possui ação antimicrobiana na fagocitose (Arnhold, 2004). Montali (1988) e Mitchell e Johns (2008) reportaram eosinofilia em falcões com infecções. Não podemos descartar a hipótese de que no caso de eosinófilos com mieloperoxidase, essas células auxiliem na resposta do organismo frente a diferentes agentes infecciosos.

Os eosinófilos de *P. unicinctus* também apresentaram-se positivos para SBB, assim como observado em três espécies de acipitrídeos *Elanus caeruleus* (peneireiro-cinzento ou milhafre-cinzento), *Haliastur indus* (águia-do-mar-de-costas-vermelhas) e *Milvus migrans govinda* (pipa-comum) (Salakij et al., 2019). Todos os outros tipos celulares (heterófilos, linfócitos, monócitos, eritrócitos e trombócitos) das duas espécies estudadas apresentaram-se negativos para ambas as reações (Figura 8).

Salakij et al. (2015, 2019) reportaram, em estudos com outras espécies de acipitrídeos, resultados negativos tanto para SBB como para PER para basófilos, linfócitos, monócitos, eritrócitos e trombócitos. Entretanto, Salakij et al. (2019) observaram heterófilos positivos para peroxidase em *Haliastur indus* (águia-do-mar-de-costas-vermelhas) e discretamente positivos para SBB, fato que não foi observado nesse estudo. Entretanto, estudos citoquímicos em células sanguíneas de aves ainda são escassos (Andreasen & Latimer, 1990; Ergun et al., 2004; Salakij et al., 2019; Santos et al., 2003; Sengul et al., 2015).

**Figura 8:** Resultados da coloração citoquímica de células do sangue periférico de *Parabuteo unicinctus*. SBB = coloração Sudan Black B; PEROX = coloração com peroxidase; HETER = heterófilos; EOS = eosinófilos; THR = trombócitos; LYMP = linfócitos; MONO = monócitos. HETER negativo para PEROX e SBB; EOS positivo para PEROX e positivo para SBB; THR negativo para PEROX e SBB; LYMP negativo para PEROX e para SBB; MONO negativo para PEROX e para SBB. Ampliação de 1000X.



Fonte: Autores.

## 5. Conclusão

Os resultados do presente estudo permitiram concluir que, morfologicamente, as células sanguíneas de *P. unicinctus* e *R. magirostris* foram semelhantes às de outros acipitrídeos e de outras aves em geral. Houve maior frequência de heterófilos durante a avaliação dos esfregaços sanguíneos, a qual foi seguida pelos eosinófilos e posteriormente pelos linfócitos, fato que difere de relatos anteriores em outros acipitrídeos. Em relação aos achados citoquímicos, os eosinófilos de *P. unicinctus*

apresentaram mieloperoxidase, reforçando a ideia de que essas células possam exercer funções fagocíticas e participar da resposta imune do hospedeiro. Infelizmente, esse padrão não se repetiu nos eosinófilos de *R. magnirostris*. Cabe ressaltar que estudos citoquímicos em células sanguíneas de aves ainda são escassos, não existindo amplo consenso sobre o comportamento bioquímico de cada tipo celular. Ainda assim, os dados morfológicos e citoquímicos do presente estudo podem servir de base para estudos futuros nessas ou em outras espécies de aves.

## Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo fornecimento de bolsa e apoio aos procedimentos de rotina do laboratório.

## Referências

- Andreasen, C. B., & Latimer, K. S. (1990). Cytochemical staining characteristics of chicken heterophils and eosinophils. *Veterinary Clinical Pathology*, 19 (2), 51–54.
- Arnhold, J. (2004). Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. *Biochemistry (Moscow)*, 69 (1), 4–9.
- Campbell, T. W. (2010). Hematology of psittacines. *Schalm's veterinary hematology*. 6th ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, 968–976.
- Capitelli, R., & Crosta, L. (2013). Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 16 (1), 71–120.
- Chen, X., Wang, J., Wei, Q., Hanif, M., Li, E., & Zhang, S. (2019). Morphology and cytochemical patterns of peripheral blood cells in domestic pigeon (*Columba livia*). *Tissue and Cell*, 59, 10–17.
- Clark, P., Boardman, W., & Raidal, S. (2009). *Atlas of clinical avian hematology*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.
- Ergun, L., Ozen, A., Ergun, E., & Asti, R. N. (2004). Alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of turkeys. *Indian Veterinary Journal*, 81 (4).
- Jain, N. C. (1986). Cytochemistry of normal and leukemic leukocytes. *Schalm's veterinary hematology*, 6th ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, 909–939.
- Limiñana, R., López-Olvera, J. R., Gallardo, M., Fordham, M., & Urios, V. (2009). Blood chemistry and hematologic values in free-living nestlings of Montagu's Harriers (*Circus pygargus*) in a natural habitat. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 40 (4), 687–695.
- Maxwell, M. H. (1985). Granulocyte differentiation in the lymphoid organs of chick embryos after antigenic and mitogenic stimulation. *Developmental & Comparative Immunology*, 9 (1), 93–106.
- Menq, W. (2018, 10 de janeiro). O que são aves de rapina? *Aves de Rapina Brasil*. [http://www.avesderapinabrasil.com/aleatorias/o\\_que\\_sao\\_avesderapina.htm](http://www.avesderapinabrasil.com/aleatorias/o_que_sao_avesderapina.htm)
- Mitchell, E. B., & Johns, J. (2008). Avian hematology and related disorders. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 11 (3), 501–522.
- Montali, R. J. (1988). Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (reptiles, birds and mammals). *Journal of comparative pathology*, 99 (1), 1–26.
- Moreira, F. L., Ferreira, I. R. P., Rosário, W. R., Pereira, D. M. S., Casarin, J. N., Silva, C. S., & Figueiredo, S. (2021). Avaliação dos aspectos citológicos e laboratoriais da leucemia linfóide aguda. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, 13 (5), e7171–e7171.
- Ranzani Paiva, M., Pádua, S., Tavares Dias, M., & Egami, M. (2013). Métodos citoquímicos aplicados em células do sangue. *Métodos para análise hematológica de peixes*. Maringá: EDUEM, 91–117.
- Salakij, C., Kasornrorkbua, C., Pornpanom, P., Salakij, J., & Jakthong, P. (2019). Quantitative and qualitative characteristics of blood cells in black-shouldered, Brahminy, and black kites. *Veterinary Clinical Pathology*, 48 (1), 19–30.
- Salakij, C., Kasornrorkbua, C., Salakij, J., Suwannasaeng, P., & Jakthong, P. (2015). Quantitative and qualitative morphologic, cytochemical and ultrastructural characteristics of blood cells in the Crested Serpent eagle and Shikra. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 63 (3), 95–105.
- Salakij, C., Salakij, J., Narkkong, N.-A., Pitakkingthong, D., & Poothong, S. (2003). Hematology, morphology, cytochemistry and ultrastructure of blood cells in painted stork (*Mycteria leucocephala*). *Agriculture and Natural Resources*, 37 (4), 506–513.
- Salakij, C., Salakij, J., Rochanapat, N., & Pitakkingthong, D. (2004). Hematology, morphology and cytochemistry of blood cells in lesser adjutant (*Leptoptilos javanicus*) and greater adjutant (*Leptoptilos dubius*). *Agriculture and Natural Resources*, 38 (3), 400–408.
- Samour, J. (2015). *Avian medicine*. (3rd ed.) Missouri: Mosby Ltd. 712p.

Santos, A. A., Da Silva, A. M., Silva, M. R., Segreto, H. R., & Egami, M. I. (2003). Structural, cytochemical, immunocytochemical and ultrastructural characterization of blood granulocytes of the roadside hawk *Buteo magnirostris* (Gmelin, 1788)(Avian, Falconiform). *Journal of submicroscopic cytology and pathology*, 35 (4), 351–357.

Santos, A. A., Joper, A. A., & Egami, M. I. (2017). Valores hematológicos do gavião carijó *Buteo magnirostris* (Gmelin, 1788) (Ave, Falconiforme). *Acta Scientiae Biological Research*, 2 (1), 43–54.

Sengul, E., Gelen, V., Kara, A., Simsek, N., Karadeniz, A., & Balkaya, H. (2015). Enzyme histochemical, histometric and hematological features of peripheral blood cells in Sparrowhawk *Accipiter nisus* (Falconiformes: Accipitridae). *Italian journal of zoology*, 82 (2), 151–156.

Sick, H. (1997). *Ornitologia brasileira* [Brazilian ornithology]. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira. 862p.

Tavares-Dias, M. (2006). A morphological and cytochemical study of erythrocytes, thrombocytes and leukocytes in four freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology*, 68 (6), 1822–1833.

Tomé, R., Santos, N., Cardia, P., Ferrand, N., & Korpimäki, E. (2005). Factors affecting the prevalence of blood parasites of Little Owls *Athene noctua* in southern Portugal. *Ornis Fennica*, 82 (2), 63.