

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DO TEMPO, TEMPERATURA E RECIPIENTE
DE ESTOCAGEM NAS CARACTERÍSTICAS DO
HEMOGRAMA DE CÃES ADULTOS HÍGIDOS**

Patrícia Sampaio Coelho
Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL
Agosto de 2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DO TEMPO, TEMPERATURA E RECIPIENTE
DE ESTOCAGEM NAS CARACTERÍSTICAS DO
HEMOGRAMA DE CÃES ADULTOS HÍGIDOS**

**Pós-Graduanda: Patrícia Sampaio Coelho
Orientador: Prof. Dr. Aureo Evangelista Santana**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Patologia Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Agosto de 2006

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

PATRÍCIA SAMPAIO COELHO - nasceu em São Paulo, no dia 29 de Agosto de 1980. Filha de Sérgio Lima Sampaio Coelho e Maria Helena Andréa Szilágyi, concluiu os cursos ginásial e colegial no Colégio Pueri Domus, em São Paulo, SP. Tornou-se graduada em Medicina Veterinária no ano de 2002, pela Universidade Paulista e ingressou no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, curso de mestrado, em agosto de 2004.

“Um homem nunca deve envergonhar-se por reconhecer que se enganou, pois isso equivale a dizer que hoje é mais sábio do que era ontem.”

Jonatham Swift

“Procure ser uma pessoa de valor, em vez de procurar ser uma pessoa de sucesso. O sucesso é consequência.”

Albert Einstein

“Planta no teu caminho sementes de bondade e amor, e não te preocupes com os resultados.”

C. Pastorino

Ofereço e Dedico

À minha mãe Maria Helena e meu padrasto Victor, que eu amo tanto e são as pessoas responsáveis por tudo que sou hoje. Esta conquista não é só minha, mas de vocês também.

Ao meu noivo Adislau, pelo amor dedicado, companheirismo e paciência e por ser uma pessoa tão especial e presente na minha vida.

*“As pessoas entram na nossa vida por acaso,
mas não é por acaso que elas permanecem.”*

Lílian Tonet

Agradeço

**Ao meu orientador Prof. Dr. Aureo Evangelista Santana
pela sabedoria, paciência e por acreditar em mim,
possibilitando concluir mais esta etapa da minha vida
acadêmica.**

**Ao programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da
FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, por ter me
concedido a chance de realizar este mestrado.**

**À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.**

**Ao Hospital Veterinário Governador Laudo Natel por me
acolher e possibilitar a realização do presente trabalho.**

Aos Professores Mirela Tinucci Costa e Antônio Carlos Alessi pelo enriquecimento de minha dissertação, com seus conhecimentos no exame de qualificação.

Ao Prof. Alberto Carnelutti Filho pelo auxílio com as análises estatísticas

Aos docentes e funcionários que contribuíram para que fosse possível a realização deste trabalho, em especial ao Eugênio, Matheus e Aloísio, funcionários do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel.

Aos residentes e pós-graduandos Renato, Thiago e Gustavo por terem me ajudado na fase inicial deste trabalho.

Às amigas eternas Simone e Pati por serem as tão bondosas, companheiras e sinceras, e por todos os momentos maravilhosos que passamos e ainda vamos passar juntas.

Ao meu pai pelos bons momentos que passamos juntos, aqueles que sempre valerão a pena recordar.

Ao meu irmão, que mesmo muito longe, esteve sempre preocupado comigo e minha vida profissional.

À Fernanda Gomes Velasque Gama por ser mais que uma companheira de trabalho, uma grande amiga e pessoa iluminada, na qual eu me espelho profissionalmente e pessoalmente.

À Paula Nunes Rosato por ser uma amiga e companheira de trabalho tão dedicada e sincera.

Às pós-graduandas Maria Luísa Buffo, Flávia Coleta, Paula di Filippo e Ana Paula Nakage pelo apoio durante estes anos de trabalho.

À grande amiga Jane, uma pessoa meiga e sempre disposta a judar.

Às amigas Ester, Marcinha, Flávia, Sabrina (Recife), Sabrina (Curitiba), Ricardo, Durva, Viúva, Malú, Fabiano e Consolo, por todos os momentos especiais que passamos juntos.

À Sabrina (Recife), Fernanda, Paula e Simone pela boa vontade e paciência para me ajudar com as dúvidas que surgiram durante este trabalho.

Às amigas Gabriela, Mariana, Carina, Juliana, Diana, Carla e Roberta que, apesar da distância, são e sempre serão muito importantes na minha vida.

Aos meus familiares Tia Muth, Fábio, Ana, Lucas, Avó Ruth, Avó Suzana, Cunhada Pri, Thaís e Vitinho, pelo apoio, carinho e momentos de distração durante minhas visitas a São Paulo.

À Dona Maria por ter cuidado de mim como se fosse sua filha.

À minha cadela Laila por ser um presente de Deus, a cadela mais meiga, amiga, companheira e amorosa. É um privilégio ter um ser tão especial ao meu lado.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE APÊNDICES.....	xv
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	1
1.1 Importância Clínica do Hemograma.....	2
1.1.1 Eritrograma.....	2
1.1.1.1 Contagem Global de Hemácias, Concentração de Hemoglobina e Hematócrito.....	2
1.1.1.2 Hemoglobina Livre.....	4
1.1.1.3 Índices Eritrocíticos Absolutos.....	4
1.1.1.4 Reticulócitos.....	5
1.1.2 Leucograma.....	6
1.1.2.1 Contagem Global de Leucócitos.....	6
1.1.2.2 Contagem Diferencial de Leucócitos.....	7
1.1.2.2.1 Basófilos.....	7
1.1.2.2.2 Eosinófilos.....	7
1.1.2.2.3 Neutrófilos.....	8
1.1.2.2.4 Linfócitos.....	9
1.1.2.2.5 Monócitos.....	10
1.1.3 Trombograma.....	10
1.1.3.1 Contagem de Plaquetas.....	10
1.1.3.2 Volume Plaquetário Médio.....	11
1.1.3.3 PDW.....	12
1.2 Avaliação da Influência do Período de Estocagem nos Parâmetros do Eritrograma.....	12
1.3 Avaliação da Influência do Período de Estocagem nos Parâmetros do Leucograma.....	13

1.4 Avaliação da Influência do Período de Estocagem nos Parâmetros do Trombograma.....	14
2. OBJETIVOS.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Parcelas Experimentais.....	16
3.2 Colheita do Sangue Periférico.....	16
3.3 Processamento da Amostras.....	17
3.4 Análise Estatística.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1 Eritrograma.....	19
4.1.1 Contagem Global de Hemácias.....	19
4.1.2 Hemoglobina.....	20
4.1.3 Hemoglobina Livre.....	21
4.1.4 Hematócrito.....	22
4.1.5 VCM.....	23
4.1.6 HCM.....	24
4.1.7 CHCM.....	25
4.1.8 Reticulócitos.....	26
4.2 Leucograma.....	28
4.2.1 Contagem Global de Leucócitos.....	28
4.2.2 Basófilos.....	29
4.2.3 Eosinófilos.....	30
4.2.4 Neutrófilos Bastonetes.....	31
4.2.5 Neutrófilos Segmentados.....	32
4.2.6 Linfócitos.....	33
4.2.7 Monócitos.....	34
4.2.8 Leucócitos Degenerados.....	36
4.3 Trombograma.....	39
4.3.1 Contagem de Plaquetas.....	39
4.3.2 VPM.....	42
4.3.3 PDW.....	43

5. CONCLUSÕES.....	45
6. REFERÊNCIAS.....	46
Apêndices.....	51

LISTA DE FIGURAS

1. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para contagem global de hemácias em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....19
2. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para concentração de hemoglobina em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....20
3. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para hemoglobina livre em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....21
4. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para hematócrito em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....22
5. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para VCM em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....23
6. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para HCM em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a

- 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....24
7. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para CHCM em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....25
8. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para contagem de reticulócitos em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....26
9. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para contagem global de leucócitos em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....28
10. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para basófilos em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....30
11. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para eosinófilos em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....31
12. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para neutrófilos bastonetes em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo

a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....	32
13. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para neutrófilos segmentados em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....	33
14. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para linfócitos em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....	34
15. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para monócitos em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....	35
16. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para leucócitos degenerados em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....	36
17. Leucócitos degenerados.....	38
18. Leucócitos degenerados.....	38
19. Leucócito em picnose.....	38
20. Leucócito em picnose.....	38
21. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para contagem de plaquetas em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes	

momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....	39
22. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para contagem de plaquetas em cães do grupo G1 (seringa a 4°C) e G2 (tubo a vácuo a 4°C) na avaliação das amostras após cinco e trinta minutos de retiradas da refrigeração, nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....	41
23. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para VPM em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....	42
24. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para PDW em cães do grupo G1(seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....	44

LISTA DE APÊNDICES

1. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem global de hemácias dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....52
2. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para concentração de hemoglobina dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....52
3. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para hemoglobina livre dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....52
4. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para hematócrito dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....53
5. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para VCM dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....53
6. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para HCM dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....53
7. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para CHCM dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4

- (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....54
8. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de reticulócitos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....54
9. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem global de leucócitos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....54
10. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para basófilos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....55
11. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para eosinófilos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....55
12. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para neutrófilos bastonetes dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....55
13. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para neutrófilos segmentados dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....56
14. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para linfócitos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....56

15. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para monócitos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....56
16. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para leucócitos degenerados dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....57
17. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de plaquetas dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....57
18. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de plaquetas dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C) e G2 (tubo a vácuo a 4°C) na avaliação das amostras após cinco e trinta minutos de retiradas da refrigeração nos diferentes momentos (horas) de conservação, Jaboticabal (SP), 2006.....57
19. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para VPM dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....58
20. Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para PDW dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.....58
21. Valores hematológicos de referência para cães normais.....59

INFLUÊNCIA DO TEMPO, TEMPERATURA E RECIPIENTE DE ESTOCAGEM NAS CARACTERÍSTICAS DO HEMOGRAMA DE CÃES ADULTOS HÍGIDOS

RESUMO

Os exames laboratoriais são reconhecidos como importantes meios de auxílio diagnóstico na prática médico-veterinária, especialmente no esclarecimento de diversas enfermidades que acometem animais de companhia, particularmente cães. Dentre tais exames, o hemograma é o mais solicitado na rotina laboratorial, devido a sua praticidade, baixo custo e utilidade na prática clínica. Diante da importância e da grande demanda pelo supracitado exame na rotina da clínica de pequenos animais, da falta de estudos com relação à viabilidade dos constituintes celulares e moleculares do sangue e da necessidade da estocagem do sangue periférico, em diversas situações, planejou-se o presente ensaio com o escopo de se verificar a estabilidade dos parâmetros do hemograma frente a diferentes temperaturas e tempos de estocagem. Para tanto, foram analisadas amostras de sangue periférico de 20 cães saudáveis, as quais foram submetidas às contagens globais de hemácias, leucócitos e plaquetas, assim como à determinação do volume globular, concentração de hemoglobina, hemoglobina livre, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, volume plaquetário médio, PDW (*platelet distribution width*), contagem diferencial de leucócitos em esfregaços sanguíneos e contagem de reticulócitos. Desta forma, as amostras de sangue foram estocadas em diferentes materiais (seringa e tubo a vácuo), submetidas a duas temperaturas (4°C e 25°C) e analisadas em diferentes períodos (logo após a colheita, 3 horas, 6

horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas, 48 horas, 72 horas e 96 horas). Dentre os resultados obtidos foi possível verificar que a contagem de hemácias, leucócitos e basófilos e concentração de hemoglobina foram estáveis durante todo o protocolo experimental e os demais parâmetros avaliados no presente estudo mostraram-se estáveis até 12 horas à temperatura ambiente e até 96 horas a 4 °C, na seringa e no tubo a vácuo. A refrigeração retarda ou evita as alterações nos parâmetros do hemograma durante a estocagem de sangue periférico de cães.

Palavras-chave: Hemograma, sangue periférico, estocagem, temperaturas, cão.

INFLUENCE OF TIME, TEMPERATURE AND STORAGE RECIPIENT ON CHARACTERISTICS OF COMPLETE BLOOD COUNT OF HEALTHY ADULT DOGS

SUMMARY

Laboratorial exams are recognized as important means of diagnosis in veterinary practice, especially in the explanation of several diseases that attack companion animals, particularly dogs. Among all exams, complete blood count (CBC) is the most requested analysis in routine practice, due to its practicability, low cost and usefulness in clinical practice. Taking into account the importance and great demand of this exam in the routine of small animal clinics, the lack of studies concerning the viability of cellular and molecular components of blood and the need of peripheral blood storage in several situations, the aim of the present study was to verify the stability of the CBC parameters in different temperatures and storage periods. For this purpose, peripheral blood samples of 20 healthy dogs were analyzed for RBC (red blood count), WBC (white blood count), platelets and as well as for determination of the packed cell volume, hemoglobin concentration, free hemoglobin and calculation of MCV (mean corpuscular volume), MCH (mean corpuscular hemoglobin) and MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration), PDW (platelet distribution width), differential leukocyte count in blood smears and reticulocyte count. Thus, blood samples were stocked in different materials (syringe or vacuum tube), submitted to two temperatures (4°C and 25°C) and analyzed in different periods (right after collection, 3 hours, 6 hours, 12 hours, 24 hours, 36 hours, 48 hours, 72 hours and 96 hours after collection).

The results allowed us to verify the RBC, WBC, basophils and hemoglobin concentration were stable during the whole study and the other parameters were stable up to 12 hours at room temperature and up to 96 hours at 4°C, in the syringe and vacuum tube. Refrigeration of specimens slows down, or avoids the parameters changes during the storage.

Key-words: Complete blood count, peripheral blood, storage, temperatures, dog.

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

O hemograma é um procedimento laboratorial amplamente utilizado na medicina veterinária (FURLANELLO et al., 2006), porém, a estabilidade dos constituintes hematológicos é pouco documentada (MÉDAILLE et al., 2006).

Em muitos casos, corre-se o risco de obtenção de resultados não confiáveis, uma vez que as amostras colhidas na rotina clínica de pequenos animais, na maioria das vezes, têm que ser enviadas aos laboratórios e o tempo até a análise pode ser longo, principalmente quando as amostras são colhidas no final da semana para serem analisadas na segunda-feira.

O cão é hoje o principal animal de companhia no Brasil, a espécie mais atendida nas clínicas do país e, conseqüentemente, a maior parte dos exames hematológicos enviados aos laboratórios são da espécie canina. Entretanto, existem poucos estudos sobre estocagem de sangue periférico de cães e, todos os estudos foram realizados fora do Brasil, em países de clima temperado, onde a temperatura ambiente é inferior àquela verificada na maior parte do território brasileiro. Além disso, nos referidos estudos utilizaram-se poucos animais (no máximo 10) e, geralmente, não foram avaliados todos os parâmetros do hemograma.

Assim, o objetivo principal deste projeto consistiu na colheita de sangue periférico de 20 cães adultos hígidos, sua posterior estocagem e posterior avaliação em diferentes momentos, a fim de contribuir para uma melhor compreensão da estabilidade dos constituintes do hemograma, sob diferentes temperaturas e tempos de estocagem.

1.1 Importância Clínica do Hemograma

O hemograma é o exame de sangue mais solicitado na rotina laboratorial, devido a sua praticidade, baixo custo e utilidade na prática clínica e compreende fundamentalmente, eritrograma, leucograma e trombograma (KERR, 2003).

Tal exame fornece uma visão instantânea do sistema hematopoético em um momento específico e oferece uma visão geral sobre o estado do paciente, uma vez que o sangue periférico serve como meio de transporte muito eficiente para toda economia orgânica (REBAR et al., 2003).

O hemograma é solicitado em diversas circunstâncias, dentre as quais para avaliar a saúde do animal, auxiliar na determinação do diagnóstico, verificar a habilidade de suporte do organismo às infecções e avaliar o progresso de certas doenças.

1.1.1 Eritrograma

O eritrograma compreende a contagem global de eritrócitos, a concentração de hemoglobina, o hematócrito ou volume globular e os índices eritrocitários que, por sua vez, englobam o volume corpuscular médio (VCM), a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Inclui-se também no eritrograma a reticulocitometria. (MEYER et al., 1995; REBAR et al., 2003, KERR, 2003).

1.1.1.1 Contagem Global de Eritrócitos, Concentração de Hemoglobina e Hematócrito

A contagem contagem global de eritrócitos, taxa de hemoglobina e hematócrito são medidas da massa de células vermelhas ou capacidade de carrear oxigênio do sangue (REBAR, 1998)

Os parâmetros supracitados são responsáveis pela determinação de anemia e policitemia, já que anemia é definida como presença de eritrócitos, concentração de hemoglobina e/ou hematócrito abaixo dos valores de referência e policitemia ou eritrocitose quando os mesmos parâmetros encontram-se acima

dos valores de referência (JAIN, 1993; FELDMAN et al., 2000; FIGHERA, 2001; KERR, 2003).

A anemia pode ser classificada como relativa ou absoluta. A anemia relativa pode se desenvolver pela expansão do volume plasmático, como em fêmeas gestantes e neonatos ou após fluidoterapia. A anemia absoluta é clinicamente importante e merece ampla investigação (JAIN, 1993); é a forma mais comum de anemia e pode ser classificada de acordo com a morfologia dos eritrócitos, mecanismos patogênicos e resposta eritróide da medula óssea (JAIN, 1993; MEYER et al., 1995; FIGHERA, 2001).

A policitemia pode ser relativa ou absoluta. A policitemia relativa é a forma mais comumente observada em cães e ocorre como resultado da redução do volume plasmático em decorrência da desidratação ou por aumento transitório da massa de células vermelhas secundário a contração esplênica (JAIN, 1993; REBAR, 1998; FELDMAN, 2000; THRALL et al., 2004). A contração esplênica pode ocorrer após exercício ou por resposta a epinefrina liberada em animais excitados, com medo ou dor (THRALL et al., 2004). A policitemia absoluta é uma elevação no número de eritrócitos circulantes decorrente de um aumento na produção destas células, porém, neste caso, o volume plasmático se apresenta normal e pode ser ainda classificada como primária quando ocorre uma desordem mieloproliferativa, caracterizada por uma proliferação exacerbada de células eritróides, e secundária quando ocorre um aumento da taxa de eritropoetina (JAIN, 1993; FELDMAN, 2000).

Os valores da contagem de eritrócitos e concentração de hemoglobina geralmente variam com o hematócrito e, sendo o hematócrito mais facilmente obtido laboratorialmente, este deve ser a escolha clínica (MEYER et al., 1995; FELDMAN et al., 2000). Os valores da contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito em cães adultos estão situados entre 5.5 e 8.5 $\times 10^6/\mu\text{L}$, 12 e 18 g/dL e 37 e 55 %, respectivamente (FELDMAN et al., 2000).

1.1.1.2 Hemoglobina Livre

Em amostras de sangue estocadas por longos períodos geralmente desenvolve-se o fenômeno hemolítico com conseqüente diminuição de hematócrito e liberação de hemoglobina para o plasma. A liberação de hemoglobina é progressiva e foi relatada por BAILEY & BOVE (1975), FAGLILOLO et al (1986), LATHAM et al. (1982), TANAKA et al. (1988), ELLIOT et al. (2003) e WIDMAN (1985).

1.1.1.3 Índices Eritrocíticos Absolutos

O VCM e o CHCM são os índices eritrocitários mais utilizados clinicamente e possibilitam a classificação morfológica das anemias, levando-se em consideração o tamanho e a saturação de hemoglobina das hemácias. Esta classificação não é específica para a etiologia da anemia, mas é muito útil quanto ao mecanismo fisiopatológico, o que auxilia na seleção do protocolo de tratamento (MEYER et al., 1995).

O VCM é traduzido como sendo o volume corpuscular médio de uma hemácia e é obtido por simples relação matemática entre o hematócrito e a contagem de hemácias (DUNCAN et al., 1994; KERR, 2003). Este índice permite a classificação das anemias em macrocíticas, quando o VCM estiver acima dos valores normais; normocítica, quando o VCM se apresentar dentro dos valores fisiológicos e microcítica, quando estiver abaixo dos valores considerados normais para a espécie (MEYER et al., 1995). Os valores normais variam bastante entre as espécies e são independentes do tamanho do animal, contudo, animais jovens tendem a ter hemácias maiores em relação aos animais adultos (JAIN, 1993; FELDMAN et al., 2000; KERR, 2003). Em cães adultos, os valores normais são de 60 a 77 fL (FELDMAN et al., 2000).

O CHCM é definido como o grau de saturação de hemoglobina em uma hemácia e é obtido por simples relação matemática entre hemoglobina e hematócrito (DUNCAN et al., 1994; KERR, 2003). O índice em questão permite a classificação das anemias em normocrômicas, quando o valor do CHCM estiver dentro da faixa de referência e hipocrômicas quando estiver abaixo do valor de

referência. O valor normal independe da espécie ou do tamanho das hemácias (KERR, 2003) e um aumento verdadeiro no CHCM não ocorre em condições normais, uma vez que os eritrócitos são saturáveis com hemoglobina em um determinado patamar (DUNCAN et al., 1994; MEYER et al., 1995; KERR, 2003), entretanto, valores acima do fisiológico podem ser obtidos se a amostra de sangue estiver hemolisada (DUNCAN et al., 1994; KERR, 2003), ocorrer diminuição no tamanho das hemácias por pressão osmótica excessiva quando a quantidade de EDTA na amostra é maior que a recomendada e se houver algum erro laboratorial na determinação do hematócrito ou na mensuração da hemoglobina (KERR, 2003). O valor normal de CHCM para os cães está compreendido entre 32 e 36 % (FELDMAN et al., 2000).

O HCM é um parâmetro que varia com o tamanho das hemácias e com a espécie e não é, portanto, freqüentemente utilizado em medicina veterinária. O valor normal para cães está situado entre 19,5 e 24,5 pg (JAIN, 1993).

1.1.1.4 Reticulócitos

Os reticulócitos são células vermelhas imaturas, com citoplasma repleto de organelas, como mitocôndrias, ribossomos e complexo de golgi que lhes confere uma coloração azulada sob a ação de corantes rotineiramente utilizados, sendo chamados de policromatófilos e a presença destas células é referida como policromasia ou policromatofilia. Para a contagem dos reticulócitos é necessária a utilização de corantes supravitais, como o novo azul de metileno ou azul brilhante de cresil, que precipitam as organelas e a célula se mostra com cordões ou pontos basofílicos (FELDMAN et al., 2000; FIGHERA, 2001).

Existem dois tipos de reticulócitos, agregados e pontilhados. Os agregados são células grandes, com as organelas fortemente agrupadas e os pontilhados são células mais maduras que apresentam pontos e grânulos de RNA residual. Estas células são freqüentemente maiores que as células vermelhas maduras, sendo responsáveis por macrocitose e anisocitose verificadas ao exame do esfregaço sangüíneo (FELDMAN et al., 2000). Da mesma forma que os humanos, os cães respondem vigorosamente com reticulocitose de agregados em anemias

regenerativas. Os reticulócitos pontilhados também são observados em cães, mas o número é muito pequeno para requerer contagem separada de agregados e pontilhados (FELDMAN et al., 2000).

Os reticulócitos são liberados da medula óssea sob ação da eritropoetina em resposta à hipoxia tecidual e, durante intensa eritropoese, são prematuramente liberados na circulação (FELDMAN et al., 2000).

Reticulocitose e policromasia são indicadores de intensa eritropoese e sua presença ou ausência permite a classificação das anemias em regenerativas ou arregenerativas, de acordo com a resposta medular. Tal qual o homem, o cão responde fortemente com reticulocitose de agregados em anemias regenerativas, já os reticulócitos pontilhados são observados em pequeno número em cães. A contagem de reticulócitos acima de 1 % ou 60.000/ μ L é indicativa de anemia regenerativa (FELDMAN et al., 2000).

1.1.2 Leucograma

O leucograma é a parte do hemograma que pesquisa alterações quantitativas e/ou morfológicas da série leucocitária e compreende as contagens total e diferencial dos leucócitos (REBAR et al., 2003). O leucograma é normalmente realizado para detectar e monitorar processos inflamatórios (MEYER et al., 1995).

1.1.2.1 Contagem Global de Leucócitos

O termo leucócito inclui todas as células brancas e seus precursores. Estas células utilizam a corrente sangüínea como meio de transporte a partir da medula óssea até os tecidos, seu destino final. A quantidade de leucócitos circulantes, portanto, reflete o equilíbrio entre sua produção e consumo. A contagem global de leucócitos engloba todas as variedades leucocitárias, que podem ser agrupadas em granulócitos, que incluem os neutrófilos, eosinófilos e basófilos e agranulócitos, que incluem os linfócitos e monócitos (KERR, 2003).

Do ponto de vista funcional, os leucócitos circulantes pertencem a dois sistemas de defesa, sistema fagocítico e sistema imunocítico. O sistema fagocítico é constituído por granulócitos e monócitos/macrófagos e o sistema imunocítico engloba linfócitos T e B circulantes. Os fagócitos são a primeira linha de defesa contra microorganismos. Tais células são atraídas para os sítios de infecção e por um processo de fagocitose, englobam e destroem a bactéria ou outro agente invasor. O sistema imunocítico é o sistema imune específico e suas células efetoras são responsáveis pela consecução da imunidade humoral, na forma de anticorpos produzidos contra agentes específicos, e imunidade mediada por células, através da produção de citocinas específicas (REBAR, 1998).

Os valores normais da contagem global de leucócitos para cães situam-se entre 6.000 e 17.000/ μ L (FELDMAN et al., 2000).

1.1.2.2 Contagem Diferencial de Leucócitos

1.1.2.2.1 Basófilos

Os basófilos são células pouco estudadas pois são raras na medula óssea e no sangue circulante (JAIN, 1993). As referidas células são produzidas na medula óssea e compartilham a mesma célula progenitora dos mastócitos tissulares. Os basófilos não se diferenciam em mastócitos, mas ambas as células desempenham funções similares e possuem histamina, que desempenha papel fundamental nas reações de hipersensibilidade imediata, heparina, que tem efeito anticoagulante importante no processo inflamatório e algumas espécies de serotonina em seus grânulos. Além disso, os basófilos ativos são capazes de sintetizar diversas citocinas que iniciam ou modulam a resposta inflamatória (REBAR et al., 2003). A basofilia e a eosinofilia algumas vezes ocorrem simultaneamente, devido à interação destas células (JAIN, 1993).

1.1.2.2.2 Eosinófilos

Os eosinófilos são produzidos na medula óssea, cujos progenitores são estimulados pela Interleucina-5, que é produzida por linfócitos T sensibilizados. Os

eosinófilos são reconhecíveis no estágio de mielócitos, pelo aparecimento de granulação eosinofílica característica (REBAR et al., 2003).

Os eosinófilos têm participação na regulação da resposta alérgica e resposta inflamatória, através da modulação da atividade dos mastócitos, de suas propriedades anti-histamínicas e anti-inflamatórias e da ação de substâncias de seus grânulos, como a serotonina e a bradicinina que inibem a indução de edema (JAIN, 1993). Além disso, tais células têm capacidade de fagocitar partículas estranhas, incluído bactérias, sofrendo degranulação e atuam no controle de infecções parasitárias através de sua ação parasiticida que ocorre por intermédio da interação com mastócitos e linfócitos (JAIN, 1993; REBAR, 1998).

Os valores normais de eosinófilos em cães adultos são de 100 a 1.250/ μ L (FELDMAN et al., 2000).

1.1.2.2.3 Neutrófilos

Os neutrófilos são produzidos na medula óssea e liberados para a corrente sangüínea, na qual circulam por aproximadamente 10 horas e migram para os tecidos de forma aleatória e unidirecional. Lesão ou invasão dos tecidos por bactérias resultam na produção e liberação de fatores estimuladores de colônia que são responsáveis pela proliferação e maturação dos neutrófilos na medula óssea (REBAR et al., 2003).

Os neutrófilos são os granulócitos circulantes predominantes e, apesar de sua função primária ser a fagocitose de microorganismos, é sabido que estas células também exercem função secretória, através da liberação de moléculas biologicamente ativas para o microambiente, participando da resposta inflamatória sistêmica (REBAR, 1998; THRALL et al., 2004).

O aumento (neutrofilia) e diminuição (neutropenia) no número de neutrófilos são clinicamente significantes, particularmente em doenças inflamatórias (REBAR, 1998). Em condições normais, os neutrófilos bastonetes que são as células imaturas, são raramente observados. O aumento na liberação de neutrófilos imaturos para a circulação é clinicamente relevante e ocorre quando aumenta a demanda funcional de neutrófilos para os tecidos ou em casos de leucemias

mielógenas ou mielomonocíticas agudas ou crônicas (REBAR, 1998; THRALL et al., 2004). A presença de neutrófilos imaturos no sangue acima do número normal constitui um desvio à esquerda e a extensão deste desvio indica a severidade da doença, entretanto, a magnitude da contagem de células reflete a habilidade da medula óssea para suprir a demanda (BAKER, 2004).

As contagens normais de neutrófilos segmentados e bastonetes em cães estão situadas entre 3.000 e 11.500/ μL e 0 e 300/ μL , respectivamente (FELDMAN et al., 2000).

1.1.2.2.4 Linfócitos

Os linfócitos do sangue periférico originam-se tanto da medula óssea quanto do timo e, diferentemente dos granulócitos e monócitos, que se movem unidirecionalmente da medula óssea para o sangue e tecido, os linfócitos recirculam. O padrão de tráfego dos linfócitos é do sangue para os linfonodos, linfa e novamente para o sangue (REBAR et al., 2003).

Os linfócitos são agrupados em duas subpopulações; sejam linfócitos B, que são responsáveis pela imunidade humoral e linfócitos T, que são responsáveis pela imunidade mediada por células. As subpopulações linfocitárias não podem ser distinguidas através da avaliação morfológica em microscopia óptica de luz (THRALL et al., 2004).

Desta forma, o aumento no número de linfócitos circulantes (linfocitose) pode ocorrer por estimulação antigênica, no hipoadrenocorticism e também em linfossarcomas e leucemias linfocíticas, sendo, nestes dois últimos casos, eventos tardios. Por sua vez, a diminuição no número de linfócitos (linfopenia) ocorre pela presença de níveis elevados de glicocorticóides na circulação, interrupção da circulação linfática, como ocorre em efusões quilosas, diminuição da linfopoese, em linfossarcomas como resultado da incapacidade dos linfócitos de migrarem do tecido linfóide comprometido e na fase aguda de infecções virais (FELDMAN, et al., 2000; REBAR et al., 2003).

Os valores de linfócitos para cães normais estão compreendidos entre 1.000 e 4.800/ μL (FELDMAN et al., 2000).

1.1.2.2.5 Monócitos

Os monócitos originam-se na medula óssea, são liberados na circulação periférica e migram para os tecidos onde continuam a se desenvolver e se diferenciam em macrófagos (REBAR et al., 2003; THRALL et al., 2004).

A contínua transformação de monócitos em macrófagos representa a segunda maior linha de defesa do sistema de fagócitos e a função destas células, além da fagocitose de microorganismos, é a regulação da resposta inflamatória através da liberação de mediadores inflamatórios, processamento de antígenos para apresentação aos linfócitos, produção de citocinas e fatores estimuladores de colônia requeridos na hematopoese, reparação tecidual e participação na regulação dos estoques de ferro do organismo (FELDMAN et al., 2000; REBAR et al., 2003). O valor de referência destas células para cães situa-se entre 150 a 1.350/ μ L (FELDMAN et al., 2000).

1.1.3 Trombograma

1.1.3.1 Contagem de Plaquetas

As plaquetas são produzidas na medula óssea, através da fragmentação do citoplasma dos megacariócitos (JAIN, 1993; FELDMAN et al., 2000).

A função primária destas células é a manutenção da hemostasia, desta forma, as plaquetas são a primeira linha de defesa quando os vasos sanguíneos são danificados e atuam através da aderência ao subendotélio, agregação, recrutamento de plaquetas adicionais para a área, facilitando a formação local de trombina e fibrina em um microambiente que assegura a rápida formação do trombo. Além disso, as plaquetas desempenham uma função importante na inflamação através da liberação de mediadores solúveis que modulam a atividade de células sanguíneas e do endotélio vascular (FELDMAN et al., 2000).

Mais de 90% dos sangramentos em cães resultam de anormalidades no número ou função das plaquetas, portanto, a importância clínica destas células não deve ser subestimada (REBAR, 1998).

As desordens plaquetárias são classificadas em quantitativas ou qualitativas. As desordens quantitativas incluem a trombocitopenia, que é a diminuição no número de plaquetas e se trata da anormalidade plaquetária mais comumente encontrada, sendo provavelmente a causa mais comum de diátese hemorrágica em humanos e cães e a trombocitose, que é o aumento do número de plaquetas e ocorre com menor frequência (JAIN, 1993).

A trombocitopenia pode ocorrer como resultado da diminuição da produção das plaquetas por agentes infecciosos como a *Ehrlichia canis*, drogas como quimioterápicos, antibióticos e agentes anti-fúngicos, processos neoplásicos ou desordens imunomediadas; aumento no consumo das plaquetas, que está associado à coagulação intravascular disseminada, hemangiossarcomas, vasculites e outras injúrias vasculares e aumento na destruição das plaquetas que é resultante do aumento da fagocitose de plaquetas pelo sistema monócito-macrofágico ou mecanismos imunomediados, tendo como causa principal a trombocitopenia imunomediada (THRALL et al., 2004). Os valores normais da contagem de plaquetas para cães estão compreendidos entre 200.000 e 500.000/ μ L (FELDMAN et al., 2000).

1.1.3.2 Volume Plaquetário Médio (VPM)

O volume plaquetário médio é o tamanho médio estimado das plaquetas e é inversamente proporcional ao número de plaquetas (FELDMAN et al., 2000). O aumento do VPM é sugestivo de resposta trombopoética e ocorre como consequência da destruição plaquetária em algumas doenças mieloproliferativas e no hipertireoidismo. Já falsos aumentos do VPM estão associados à exposição ao EDTA, quando as plaquetas são mantidas em ambiente frio ou refrigeradas. A diminuição do VPM pode estar relacionada a trombocitopenia imunomediada na fase inicial e deficiência de trombopoese medular (JAIN, 1993; FELDMAN et al., 2000; REBAR et al., 2003). O valor normal em cães está compreendido entre 6,1 e 10 fL (REBAR et al., 2003).

1.1.3.3 PDW - *Platelet Distribution Width* (amplitude de distribuição plaquetária com base no tamanho)

O PDW é um valor dado por alguns contadores automáticos e representa a distribuição populacional das plaquetas com base no seu tamanho, ou seja, é um índice de variação no tamanho das plaquetas e pode ser útil em laboratórios que não realizam rotineiramente a avaliação das plaquetas no esfregaço sangüíneo (FELDMAN et al., 2000).

1.2 Avaliação da Influência do Período de Estocagem nos Parâmetros do Eritrograma

FURLANELLO et al. (2006) realizaram estocagem de sangue total de cinco cães hígidos durante 48 horas e observaram que as alterações no hematócrito, VCM e CHCM foram maiores à temperatura ambiente que a 4°C em todos os momentos analisados.

PASTOR et al. (1997) avaliaram as alterações nos parâmetros do hemograma do sangue de 10 cães após 72 horas de estocagem à temperatura ambiente e 4°C e observaram que a contagem global de hemácias e a taxa de hemoglobina se mantiveram estáveis durante 72 horas. Os valores do hematócrito tenderam a aumentar com diferenças estatisticamente significativas observadas com 24 horas nas amostras estocadas à temperatura ambiente.

Já, MÉDAILLE et al. (2006) submeteram as amostras de sangue total de cães à estocagem por 48 horas à temperatura ambiente e relataram diminuição significativa na contagem global de hemácias após 24 e 48 horas de estocagem e, além disso, que a taxa de hemoglobina se manteve estável durante todo o estudo. FURLANELLO et al. (2006), observaram um pequeno aumento nos valores de hemoglobina e aumento significativo no hematócrito após 12 horas de estocagem à temperatura ambiente e 4°C e que os referidos parâmetros continuaram a aumentar até 48 horas.

O VCM aumentou com o tempo (PASTOR et al., 1997; FURLANELLO et al., 2006; MÉDAILLE et al., 2006). PASTOR et al. (1997) observaram diferenças significativas após 12 horas nas amostras estocadas à temperatura ambiente e após 24 horas nas amostras estocadas a 4°C. De acordo com FURLANELLO et al. (2006), ocorreu aumento significativo a partir de 12 horas, tanto nas amostras estocadas a 4°C, quanto nas estocadas à temperatura ambiente. MÉDAILLE et al. (2006) relataram que, apesar do aumento constante do VCM durante as 48 horas de estocagem, apenas poucas amostras ultrapassaram os valores normais para a espécie canina.

Os valores de HCM se mantiveram estáveis durante o estudo (PASTOR et al., 1997).

O CHCM diminuiu significativamente entre 12 e 24 horas e continuou a diminuir até 48 horas de estocagem, tanto à temperatura ambiente quanto a 4°C, contudo, a diminuição foi maior nas amostras à temperatura ambiente que nas amostras refrigeradas (FURLANELLO et al., 2006).

Há recomendações para que a contagem de reticulócitos seja realizada até seis horas após a colheita do sangue nas amostras conservadas à temperatura ambiente e até 72 horas nas amostras a 4°C (National Committee for Clinical Laboratory Standards) – BUTTARELLO (2004).

1.3 Avaliação da Influência do Período de Estocagem nos Parâmetros do Leucograma

Segundo PASTOR et al., (1997) a contagem global de leucócitos aumentou significativamente após 24 horas nas amostras estocadas à temperatura ambiente e diminuiu significativamente a partir de 72 horas, nas amostras refrigeradas, porém as diferenças não foram clinicamente relevantes. Já de acordo com FURLANELLO et al. (2006), ocorreu diminuição significativa na contagem de leucócitos após 48 horas de estocagem nas amostras à temperatura ambiente. Segundo MÉDAILLE et al. (2006), a média da contagem de leucócitos aumentou com 24 horas de estocagem, sem diferenças estatisticamente significativas, porém, as diferenças nas contagens de leucócitos variaram com a amostra,

independente do valor inicial. Green et al. (1976) observaram aumento significativo na contagem de leucócitos após 72 horas de estocagem a 4°C de sangue de cães.

WOOD et al. (1999) realizaram estocagem de sangue humano por 48 horas e não observaram diferença significativa na contagem de leucócitos pelo método da impedância e relataram diminuição na contagem pelo método óptico das amostras conservadas à temperatura ambiente.

GULATI et al. (2002) avaliaram as alterações nas contagens global e diferencial de leucócitos durante a estocagem de sangue humano à temperatura ambiente por sete dias e observaram alterações na contagem diferencial de leucócitos durante as primeiras 24 horas, como aumento progressivo de neutrófilos, linfócitos e eosinófilos e diminuição numérica dos monócitos.

Já, WOOD et al. (1999) realizaram a contagem diferencial de leucócitos após estocagem de sangue humano por 24 horas e observaram aumento no número de neutrófilos nas amostras estocadas a 4°C. Nas amostras conservadas à temperatura ambiente ocorreu diminuição no número de neutrófilos, monócitos e eosinófilos e aumento dos linfócitos. Os autores supracitados observaram ainda aumento no número de basófilos nas duas temperaturas de estocagem.

De acordo com HOUWEN (2000), a preparação do esfregaço sangüíneo para a contagem diferencial de leucócitos deve ser feita até 2 horas após a colheita da amostra, apesar dos resultados serem aceitáveis até 8 horas após a colheita em amostras conservadas a 4°C.

1.4 Avaliação da Influência do Período de Estocagem nos Parâmetros do Trombograma

Os estudos realizados com cães divergem com relação ao momento em que as amostras devem ser processadas após serem retiradas da refrigeração, para avaliação das plaquetas. Alguns autores realizaram a avaliação logo após ou cinco minutos após a retirada das amostras da temperatura de refrigeração, portanto, com as amostras refrigeradas (PASTOR et al., 1997; MÉDAILLE et al.,

2006) e outros avaliaram 30 minutos após a retirada da refrigeração para permitir que as amostras retornassem à temperatura ambiente antes da análise (FURLANELLO et al., 2006). Os autores supracitados obtiveram resultados conflitantes na avaliação da contagem de plaquetas após a estocagem a 4°C.

PASTOR et al. (1997) observaram que os valores de plaquetas diminuíram com o tempo, sendo que, nas amostras refrigeradas, as diferenças foram significativas seis horas após a colheita e nas amostras estocadas à temperatura ambiente não houveram diferenças significativas, contudo, foi observada uma diminuição progressiva na contagem de plaquetas nesta temperatura de estocagem (a contagem de plaquetas às 6 horas é 89% do valor inicial). Segundo MEDÁILLE et al. (2006), ocorreu diminuição significativa na contagem de plaquetas após estocagem à temperatura ambiente por 24 horas. Já FURLANELLO et al. (2006) relataram que a contagem de plaquetas diminuiu significativamente após 36 horas de estocagem à temperatura ambiente e se manteve constante nas amostras refrigeradas.

A maior parte dos estudos com sangue humano prenderam-se à avaliação das amostras após 15 a 30 minutos de retiradas da refrigeração (BRITTIN et al., 1969; COHLE et al., 1981; WOOD et al., 1999) e não observaram alterações na contagem de plaquetas após estocagem à temperatura ambiente e a 4°C. Além disso, alguns autores realizaram a comparação das amostras imediatamente após serem retiradas da refrigeração e trinta minutos após, a fim de permitir que retornassem à temperatura ambiente e não observaram alterações em nenhum parâmetro do hemograma (WARNER et al., 1991; AL-ISMAIL et al., 1995).

FURLANELLO et al. (2006) observaram aumento no VPM após 12 horas de estocagem à temperatura ambiente e aumento no PDW após 48 horas de estocagem a 4°C. Porém, de acordo com PASTOR et al. (1997), não ocorreram diferenças significativas nos valores de VPM durante a estocagem por 72 horas à temperatura ambiente e 4°C e foi observado aumento no PDW após 24 horas de estocagem.

2. OBJETIVOS

Tendo como base a fundamentação bibliográfica precedente, concebeu-se o ensaio em questão com o escopo de avaliar a estabilidade dos parâmetros do hemograma em amostras de sangue periférico de cães saudáveis, submetidas a diferentes temperaturas, recipientes e períodos de estocagem.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Para o desenvolvimento do protocolo experimental foram utilizados 20 cães híbridos, adultos, de diversas raças, machos ou fêmeas, com peso superior a 20 Kg, obtidos junto ao canil central do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal e ao canil da Polícia Militar de Ribeirão Preto-SP. Os animais foram alojados em canis individuais onde receberam água e alimentação *ad libitum* e o bom estado de saúde foi verificado com base nos resultados do exame clínico detalhado, testes hematológicos, bioquímicos séricos, coproparasitológicos, urinálise de rotina, além de testes sorológicos para toxoplasmose, erliquiose e leptospirose.

3.2 Colheita das Amostras de Sangue Periférico

Antes da colheita, os animais foram encaminhados ao canil central do Hospital Veterinário da FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Após anti-sepsia local, as amostras de sangue foram colhidas por venipunção jugular, com auxílio de agulhas (25 x 8), seringas de 10 ml e tubos a vácuo de 3 mL contendo ácido etilenodiaminotetracético dissódico (EDTA – 1 mg/mL) como anticoagulante. As amostras foram distribuídas em alíquotas durante a colheita, sendo utilizadas 2 seringas e 17 tubos a vácuo, em um total de 71 mL por animal. Imediatamente após a colheita, as amostras foram destinadas ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária Prof. Dr. Joaquim Martins Ferreira Neto do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal e

submetidas a diferentes condições de temperatura e tempo de armazenamento, como explicitado a seguir.

3.3 Processamento das Amostras

As amostras de sangue de cada animal foram distribuídas em quatro diferentes grupos, G1 a G4, referentes aos diferentes recipientes e temperaturas de conservação, para a avaliação em nove momentos, M1 a M9, referentes aos períodos de conservação, de tal modo que os 20 animais participaram de todos os grupos e cada grupo foi avaliado nos diferentes momentos, segundo o que se segue:

Grupos

- G1: Estocagem a 4°C em seringa
- G2: Estocagem a 4°C em tubo a vácuo
- G3: Estocagem a 25°C em seringa
- G4: Estocagem a 25°C em tubo a vácuo

Momentos

- M1: Logo após a colheita
- M2: 3 horas após a colheita
- M3: 6 horas após a colheita
- M4: 12 horas após a colheita
- M5: 24 horas após a colheita
- M6: 36 horas após a colheita
- M7: 48 horas após a colheita
- M8: 72 horas após a colheita
- M9: 96 horas após a colheita

Na estocagem a 4°C (grupos G1 e G2), a avaliação dos parâmetros do eritrograma, leucograma e trombograma foi realizada trinta minutos após a retirada das amostras da temperatura de refrigeração, a fim de permitir que as amostras retornassem à temperatura ambiente antes da análise. Na contagem de plaquetas foi realizada ainda sua determinação logo após ou cinco minutos após as amostras serem retiradas da refrigeração, para avaliação das mesmas ainda refrigeradas e posterior comparação com as amostras que retornaram a temperatura ambiente.

Em cada momento as amostras foram submetidas a análises hematológicas, incluindo contagens globais de hemácias, leucócitos e plaquetas, assim como determinação do volume globular, concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, volume plaquetário médio e PDW com o auxílio do contador automático de células KX-21N SYSMEX; contagem diferencial de leucócitos e contagem de leucócitos degenerados em esfregaços sanguíneos corados com uma mistura de Metanol May-Grunwald Giemsa (MGG) e contagem de reticulócitos corados com Azul Brilhante de Cresil.

Finalmente, as amostras foram centrifugadas durante cinco minutos para posterior determinação da taxa plasmática de hemoglobina livre, em espectrofotômetro semi-automático da marca Labtest, modelo Labquest.

3.4 Análise Estatística

A análise estatística foi conduzida segundo o delineamento inteiramente casualizado, com parcelas subdivididas para análise de variância e a comparação das médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As variáveis com coeficiente de variação acima de 25% foram transformadas pela expressão $\sqrt{Y+0,5}$ (SNEDECOR & COCHRAN, 1987).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Eritrograma

4.1.1 Contagem Global de Hemácias

Os valores médios obtidos para contagem global de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 1.

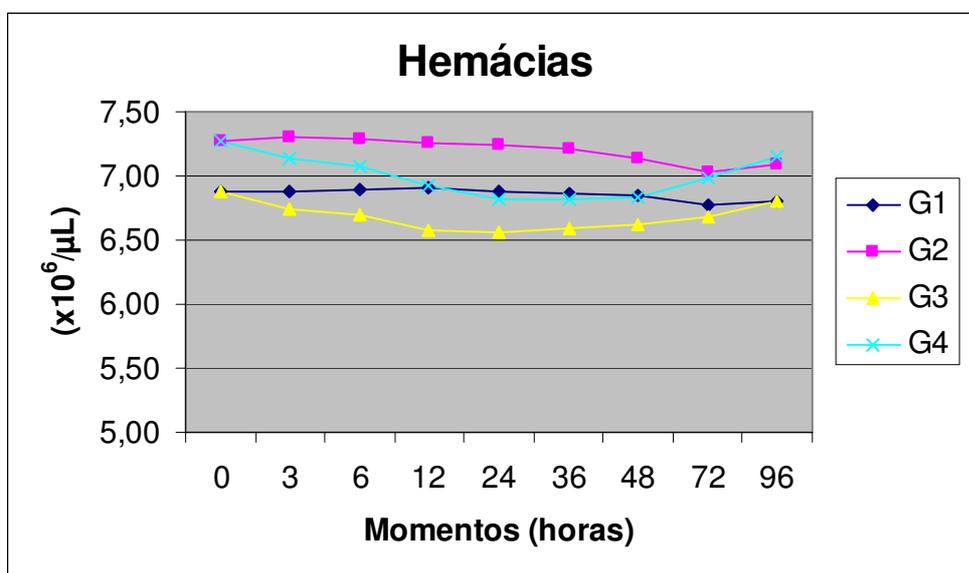


Figura 1. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para contagem global de hemácias em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

A partir dos dados apresentados na figura 1 (apêndice 1), verifica-se que não houve diferença significativa na contagem de hemácias entre os grupos, no decorrer de todo o protocolo experimental. Este dado corrobora achados de PASTOR et al. (1997) e WOOD et al. (1999), que relataram estabilidade das hemácias na estocagem de sangue periférico de cães por 72 horas e de sangue

periférico humano por 48 horas, respectivamente e discorda dos achados reportados por MÉDAILLE et al. (2006), que observaram diminuição na contagem de hemácias após 24 horas de estocagem de sangue de animais da espécie canina à temperatura ambiente.

4.1.2 Hemoglobina

Os valores médios obtidos para concentração de hemoglobina (g/dL) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 2.

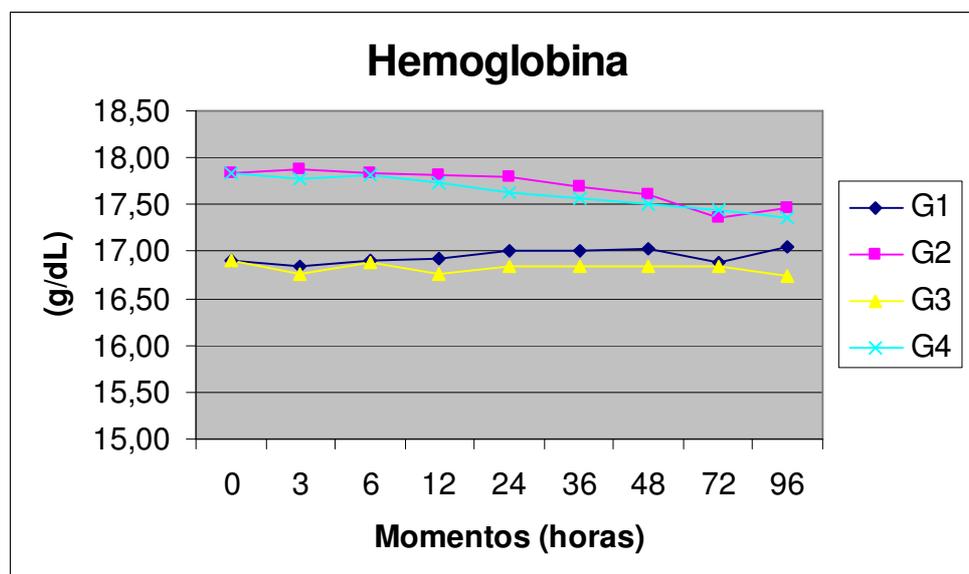


Figura 2. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para concentração de hemoglobina em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

Os dados obtidos para concentração de hemoglobina não mostraram diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos grupos ao longo do período de estocagem, mostrando-se um parâmetro estável até 96 horas. Tal fato

foi citado por PASTOR et al. (1997) e MÉDAILLE et al. (2006), porém discorda dos achados de FURLANELLO et al. (2006), os quais relatam aumento significativo nos valores de hemoglobina após 12 horas de estocagem à temperatura ambiente e 4°C.

4.1.3 Hemoglobina Livre

Os valores médios obtidos para hemoglobina livre (g/dL) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 3.

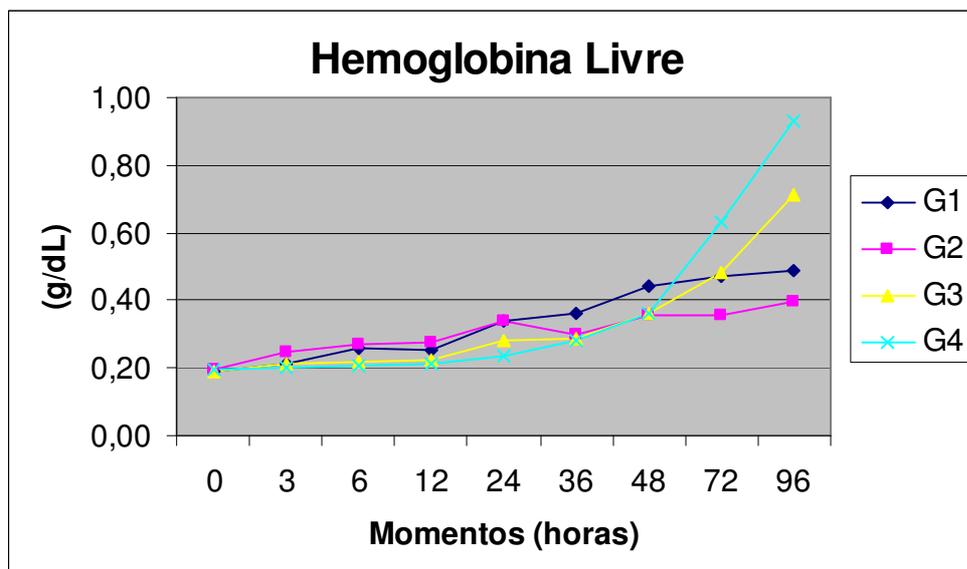


Figura 3. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para hemoglobina livre em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

A partir dos dados apresentados na figura 3 (apêndice 3), verifica-se que a hemoglobina livre aumentou significativamente após 48 horas de estoque nas amostras conservadas a 25°C e, após 24 horas, nas amostras estocadas a 4°C, porém, o aumento foi maior nas amostras estocadas a 25°C. Não foram

observadas diferenças estatísticas entre a estocagem na seringa e no tubo a vácuo. Estes aumentos refletem hemólise com conseqüente liberação de hemoglobina para o plasma, que ocorre em amostras estocadas por longos períodos à temperatura ambiente e 4°C, como descrito por BAILEY & BOVE (1975), FAGLILOLO et al. (1986), LATHAM et al. (1982), TANAKA et al. (1988), ELLIOT et al. (2003) e WIDMAN (1985).

4.1.4 Hematócrito

Os valores médios obtidos para hematócrito (%) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C), e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 4.

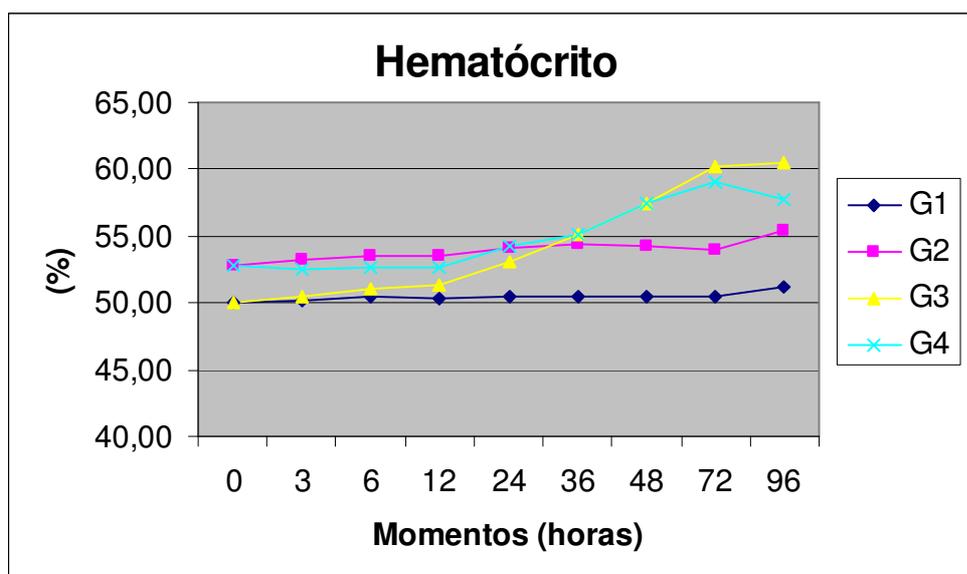


Figura 4. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para hematócrito em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

A partir dos dados demonstrados na figura 4 (apêndice 4), verifica-se que o valor do hematócrito das amostras conservadas a 25°C aumentou significativamente a partir de 36 horas de estocagem quando conservadas na

seringa e 48 horas de estocagem no tubo a vácuo, fato não observado a 4°C, a qual não foi observada qualquer diferença estatística durante o período de estocagem. Estes dados corroboram PASTOR et al. (1997), em parte, visto que estes autores citam a estabilidade do hematócrito a 4°C e a elevação dos seus valores à temperatura ambiente após 24 horas no tubo a vácuo.

4.1.5 VCM

Os valores médios obtidos para VCM (fL) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na tabela e figura de número 5.

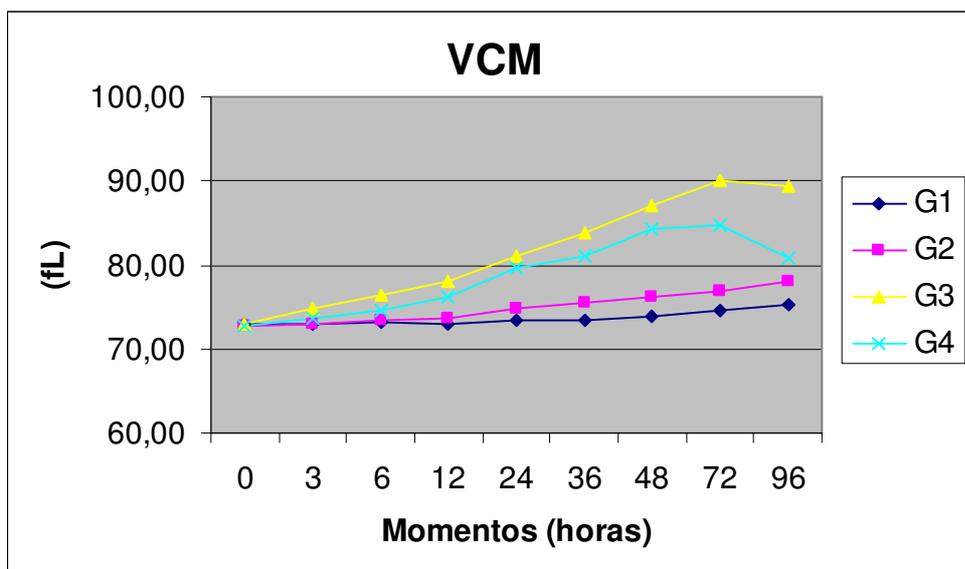


Figura 5. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para VCM em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

O VCM aumentou significativamente após 12 horas nas amostras estocadas a 25°C, tanto na seringa quanto no tubo a vácuo, da mesma forma que em trabalhos prévios de PASTOR et al. (1997) e FURLANELLO et al. (2006) em amostras de sangue estocadas por 72 e 48 horas, respectivamente. Nas amostras

estocadas a 4°C, a elevação significativa ocorreu a partir de 36 horas nos tubos a vácuo e 96 horas nas seringas, concordando, em parte, com achados de PASTOR et al. (1997), que observaram aumento do VCM após 24 horas de estocagem e FURLANELLO et al. (2006) que relataram aumento após 12 horas, ambos no tubo a vácuo.

4.1.6 HCM

Os valores médios obtidos para HCM (pg) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 6.

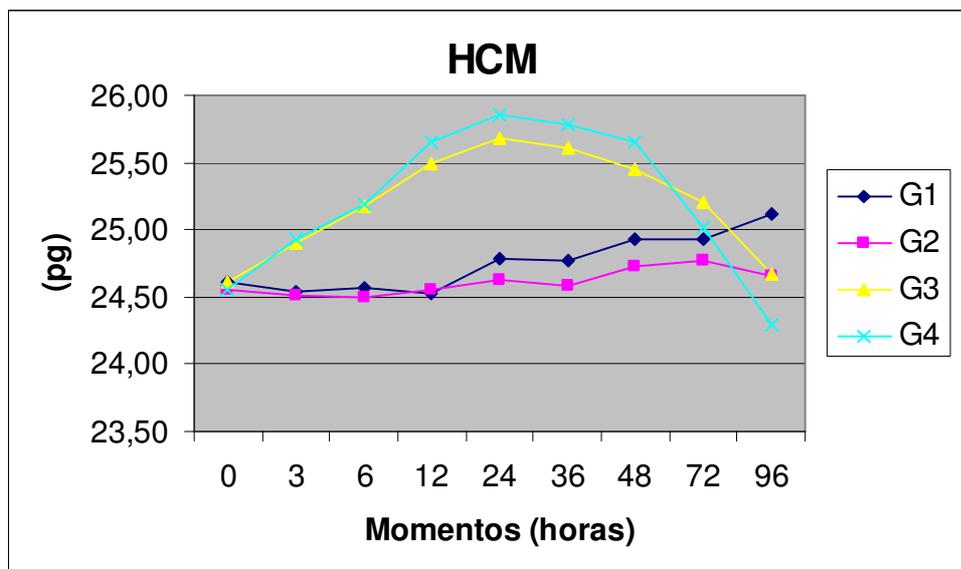


Figura 6. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para HCM em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

Como verificado na figura 6 (apêndice 6), ocorreu aumento significativo no valor de HCM a partir de 12 horas de estoque nas amostras a 25°C, na seringa e no vácuo, porém os valores diminuíram a partir de 48 horas de estocagem e não houve diferença significativa durante a estocagem das amostras a 4°C. Tais

resultados discordam dos achados de PASTOR et al. (1997), os quais verificaram estabilidade do HCM à temperatura ambiente e 4°C durante 72 horas de estocagem de sangue de cão.

4.1.7 CHCM

Os valores médios obtidos para CHCM (%) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 7.

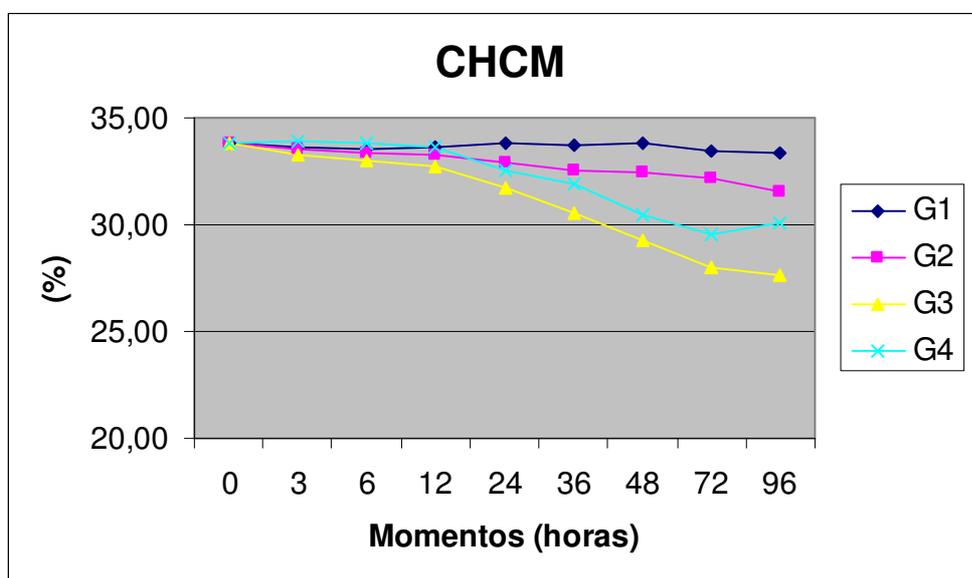


Figura 7. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para CHCM em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

Os dados apresentados na figura 7 (apêndice 7) indicam que ocorreu diminuição significativa do CHCM nas amostras estocadas a 25°C a partir de 12 e 24 horas, na seringa e no vácuo, respectivamente. Nas amostras conservadas a 4°C, foi observada diminuição após 36 horas de estocagem no tubo a vácuo e não houve diferença significativa durante estocagem na seringa. Estes dados

corroboram, em parte, os achados de FURLANELLO et al. (2006), os quais observaram diminuição do CHCM após 12 horas tanto à temperatura ambiente quanto a 4°C e relataram maior diminuição nas amostras à temperatura ambiente, como observado no estudo em tela.

4.1.8 Reticulócitos

Os valores médios obtidos para contagem de reticulócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 8.

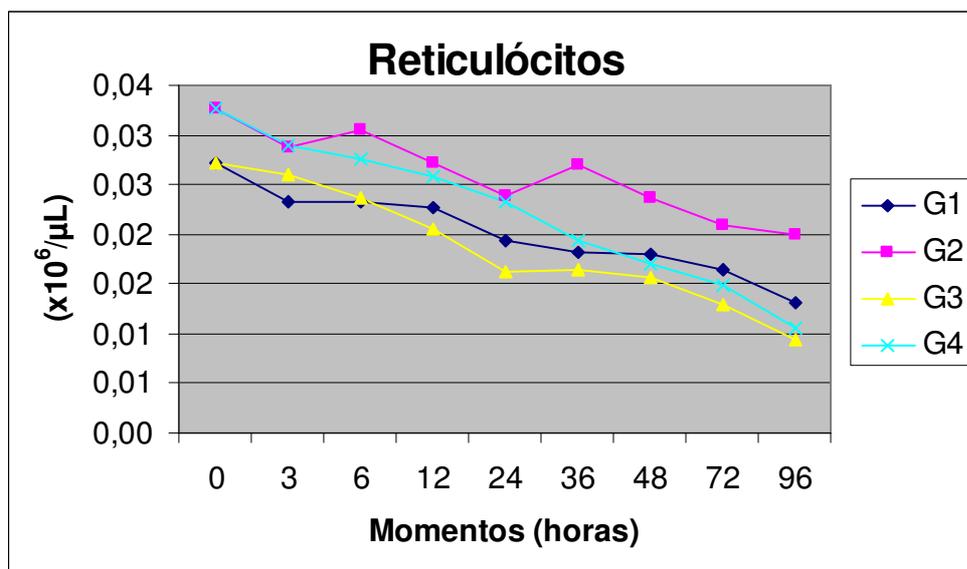


Figura 8. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para contagem de reticulócitos em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

Os dados apresentados na figura 8 (apêndice 8) indicam que os valores de reticulócitos diminuíram durante todo o período de estocagem. Contudo, houve diminuição estatisticamente significativa com 96 horas de conservação a 25°C no tubo a vácuo e não ocorreu diferença significativa durante a estocagem das

amostras a 25°C na seringa e a 4°C na seringa e no tubo a vácuo. Tais achados discordam dos relatos de BUTTARELLO (2004), que observou diminuição dos reticulócitos após seis horas de estocagem à temperatura ambiente e 72 horas a 4°C no tubo a vácuo.

Adicionalmente com relação ao eritrograma, verificou-se que os valores do hematócrito ultrapassaram os limites fisiológicos reportados por FELDMAN et al. (2000) após estocagem à temperatura ambiente. Já os resultados do VCM das amostras estocadas a 4°C não ultrapassaram a faixa de normalidade considerada por FELDMAN et al. (2000) durante todo o protocolo experimental e, à temperatura ambiente, os valores foram superiores aos valores de referência citados por FELDMAN et al. (2000) a partir de 12 horas de estocagem, discordando dos achados de MÉDAILLE et al. (2006), os quais relataram que poucas amostras estocadas à temperatura ambiente por 48 horas ultrapassaram os valores normais para a espécie canina. Para o CHCM os valores das amostras no tubo a vácuo a 4°C só ultrapassaram os limites considerados fisiológicos por FELDMAN et al. (2000) com 96 horas de estocagem.

O aumento da hemoglobina livre indicou a ocorrência do fenômeno hemolítico durante a estocagem, contudo, este não foi relevante a ponto de causar diminuição significativa na contagem de hemácias.

Segundo MÉDAILLE et al. (2006), a elevação do VCM durante a estocagem se deve ao aumento do conteúdo de fluido no interior das hemácias, levando a redução do volume plasmático. O aumento do volume eritrocitário e diminuição do volume plasmático são as possíveis causas do aumento do hematócrito verificado no presente estudo.

A diminuição da CHCM ocorre provavelmente devido ao aumento do hematócrito, uma vez que o hematócrito é utilizado no cálculo deste índice eritrocitário e, segundo KERR (2003), os parâmetros supracitados são inversamente proporcionais.

De acordo com COWGILL et al. (2003), observa-se maturação *in vitro* dos reticulócitos durante a estocagem de sangue periférico e, segundo THRALL et al. (2004), a maturação dos reticulócitos envolve uma contínua e progressiva perda

das organelas. À medida que os reticulócitos perdem suas organelas, a identificação destas células é dificultada, uma vez que diminuem os pontos basofílicos formados no citoplasma através da precipitação das organelas após utilização de corantes supravitais, o que condiz com a diminuição das referidas células neste estudo.

4.2 Leucograma

4.2.1 Contagem Global de Leucócitos

Os valores médios obtidos para contagem global de leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 9.

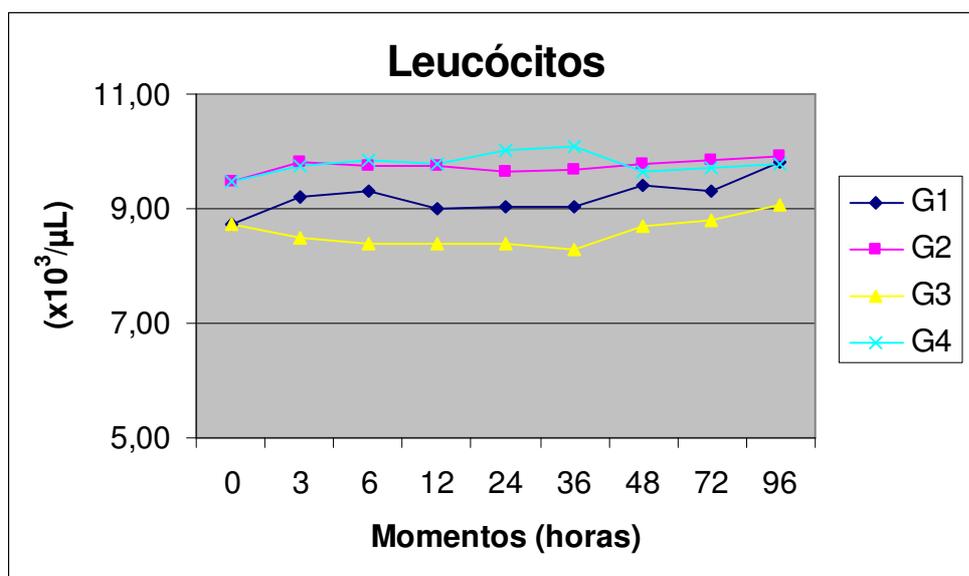


Figura 9. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para contagem global de leucócitos em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

Os dados obtidos para a contagem global de leucócitos não evidenciaram diferenças significativas nos diferentes grupos e momentos experimentais, corroborando os achados de WOOD et al. (1999) e GULATI et al. (2002), cujos dados mostraram estabilidade dos leucócitos por 48 horas em amostras de sangue humano. Entretanto, os dados obtidos discordam de vários autores, dentre os quais, PASTOR et al. (1997) e GREEN et al. (1976), que observaram aumento significativo da contagem global de leucócitos após estocagem à temperatura ambiente e 4°C, respectivamente, e FURLANELLO et al. (2006) e PASTOR et al. (1997), que relataram diminuição significativa dos leucócitos das amostras conservadas à temperatura ambiente e refrigeração, respectivamente.

4.2.2 Basófilos

Os valores médios obtidos para basófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 10.

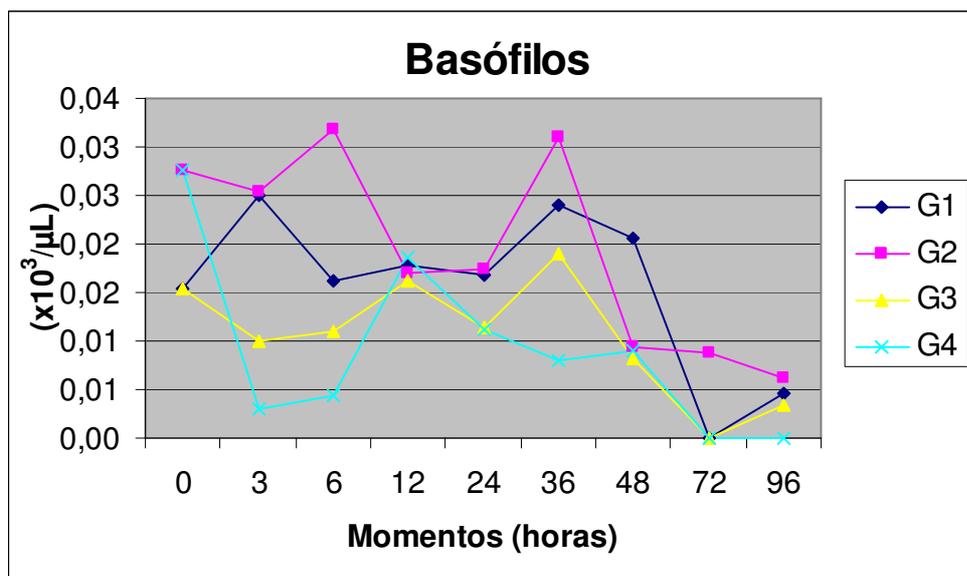


Figura 10. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para basófilos em cães do grupo G1 (siringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (siringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

Os dados apresentados na figura 10 (apêndice 10) indicam que, estatisticamente, não houve diferença significativa nos grupos, durante todo o protocolo experimental, o que não condiz com os resultados de WOOD et al. (1999), que observaram aumento no número de basófilos à temperatura de refrigeração e ambiente após estocagem de sangue periférico humano por 24 horas.

4.2.3 Eosinófilos

Os valores médios obtidos para eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (siringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (siringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 11.

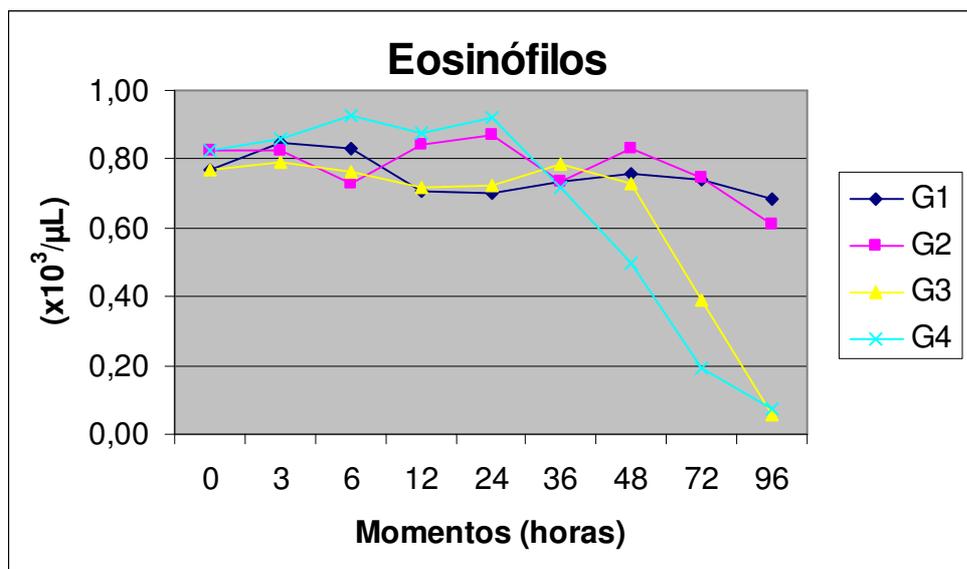


Figura 11. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para eosinófilos em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

A partir dos dados apresentados na figura 11 (apêndice 11), verifica-se que ocorreu diminuição significativa na contagem de eosinófilos a partir de 72 horas nas amostras estocadas no tubo a vácuo a 25°C e de 96 horas na seringa a 25°C e não houve diferença significativa durante a estocagem das amostras a 4°C. O fato supracitado concorda com os achados de WOOD et al. (1999), os quais relataram diminuição numérica dos eosinófilos das amostras estocadas à temperatura ambiente e discorda de GULATI et al. (2002) que observaram aumento no número dos eosinófilos à temperatura ambiente.

4.2.4 Neutrófilos Bastonetes

Os valores médios obtidos para neutrófilos bastonetes ($\times 10^3/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 12.

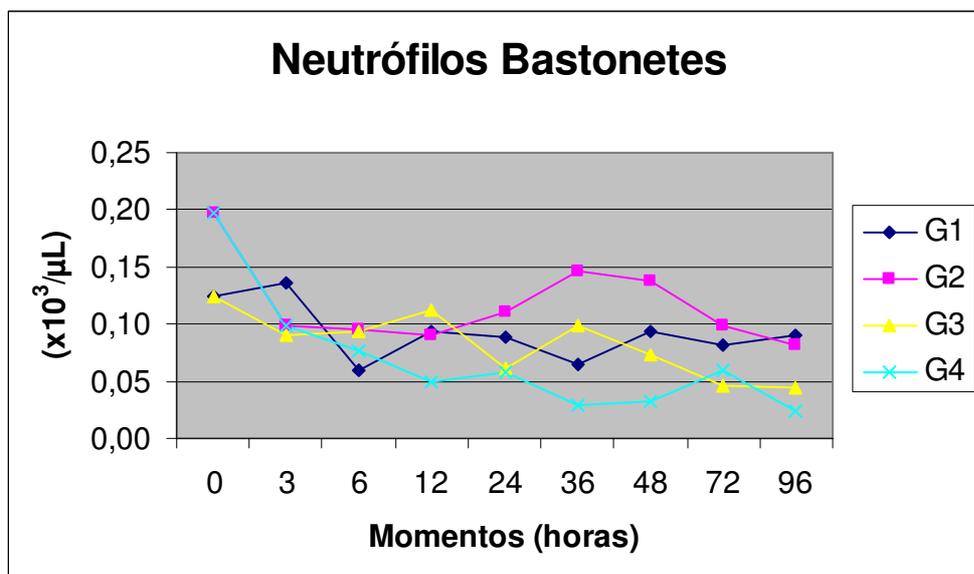


Figura 12. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para neutrófilos bastonetes em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

Como apresentado na figura 12 (apêndice 12) ocorreu diminuição significativa no valor de neutrófilos bastonetes a partir de 3 horas nas amostras estocadas no tubo a vácuo, tanto a 4°C quanto a 25°C e não houve diferença significativa durante a estocagem na seringa, nas duas temperaturas de estocagem utilizadas no experimento em tela.

4.2.5 Neutrófilos Segmentados

Os valores médios obtidos para neutrófilos segmentados ($\times 10^3/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 13.

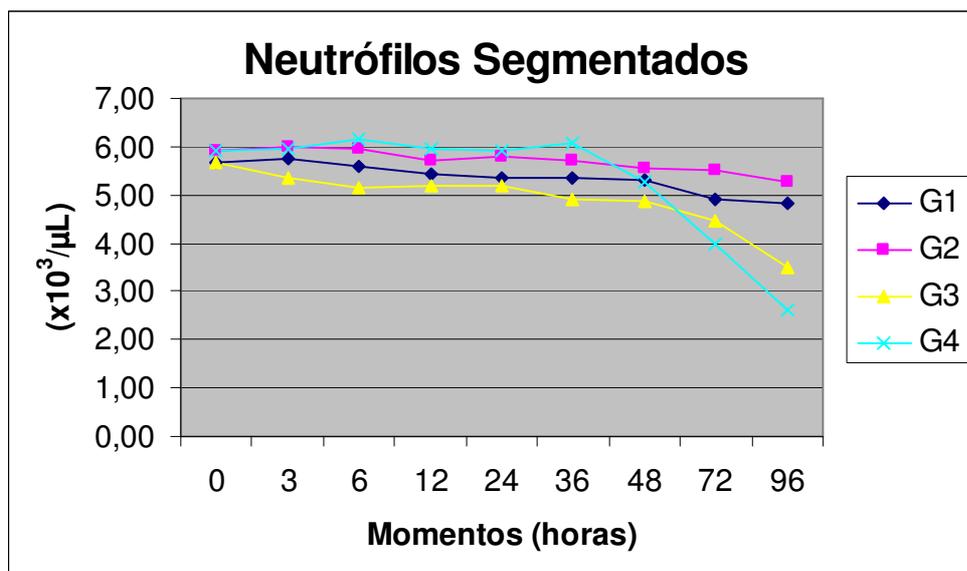


Figura 13. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para neutrófilos segmentados em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

Os dados apresentados na figura 13 (apêndice 13) indicam que houve diminuição significativa na contagem de neutrófilos segmentados nas amostras estocadas a 25°C a partir de 72 e 96 horas, no vácuo e seringa, respectivamente. Não foi observada diferença significativa durante estocagem das amostras a 4°C. Os resultados obtidos corroboram, em parte, achados de WOOD et al. (1999) que detectaram diminuição da contagem de neutrófilos após 24 horas de estocagem de sangue humano à temperatura ambiente, contudo, relataram aumento dos neutrófilos a 4°C e discordam dos dados de GULATI et al. (2002) que observaram aumento dos neutrófilos após 24 horas de estocagem à temperatura ambiente.

4.2.6 Linfócitos

Os valores médios obtidos para linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3

(seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 14.

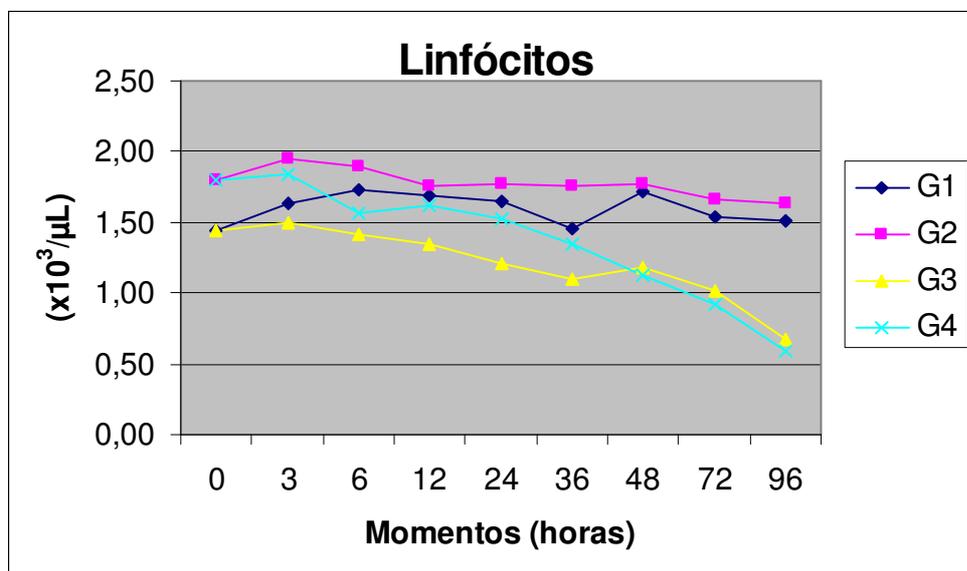


Figura 14. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para linfócitos em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

A contagem de linfócitos diminuiu significativamente nas amostras estocadas a 25°C, a partir de 48 e 96 horas, no tubo a vácuo e seringa, respectivamente. Não houve diferença significativa durante estocagem das amostras a 4°C. Estes resultados não confirmam os descritos por WOOD et al. (1999) e GULATI et al. (2002), que observaram aumento da contagem de linfócitos após 24 horas de conservação de sangue humano à temperatura ambiente.

4.2.7 Monócitos

Os valores médios obtidos para monócitos (x10³/μL) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3

(seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 15.

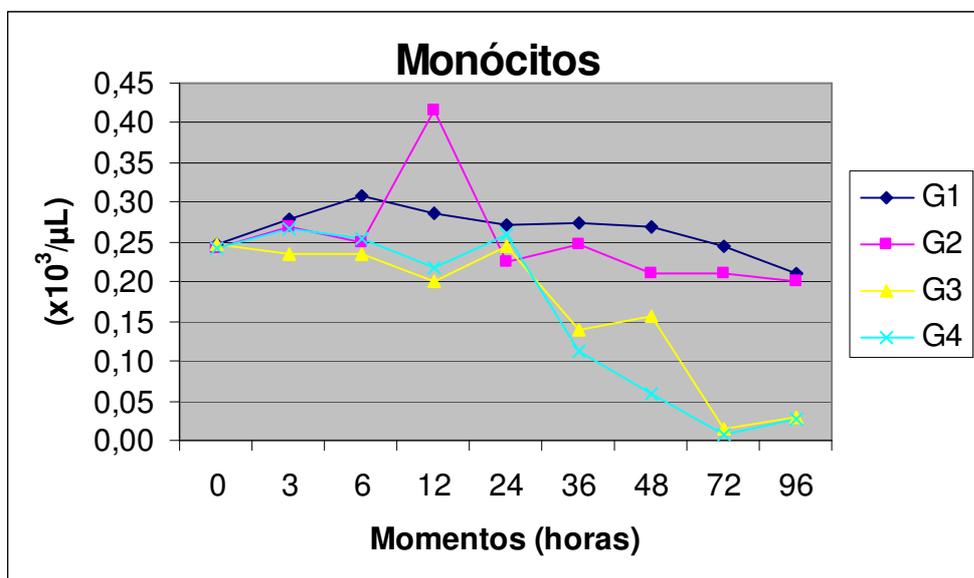


Figura 15. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para monócitos em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

A partir dos dados da figura 15 (apêndice 15), verifica-se que ocorreu diminuição significativa na contagem de monócitos a partir de 48 horas nas amostras estocadas no tubo a vácuo, tanto a 4°C quanto a 25°C e diminuição significativa após 72 horas de estocagem na seringa a 25°C. Não foi observada diferença significativa durante a estocagem na seringa a 4°C. Os dados obtidos corroboram, em parte, achados de GULATI et al. (2002) e WOOD et al. (1999), que relataram diminuição do número de monócitos após estocagem de sangue de humanos à temperatura ambiente durante 24 horas, porém, os mesmos autores não observaram alterações na contagem de monócitos na conservação das amostras a 4°C.

4.2.8 Leucócitos Degenerados

Os valores médios obtidos para leucócitos degenerados ($\times 10^3/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 16.

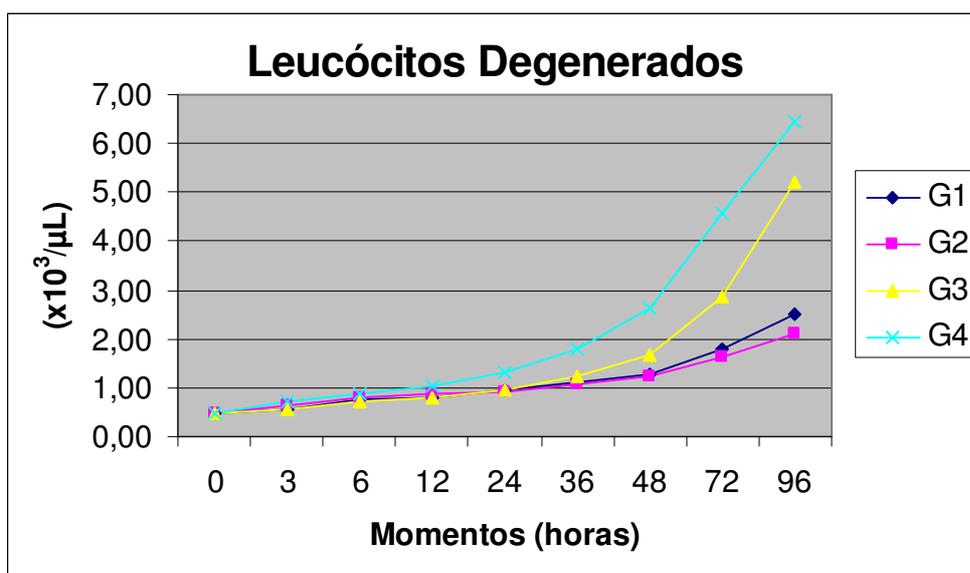


Figura 16. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para leucócitos degenerados em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

Como explicitado na figura 16 (apêndice 16) ocorreu aumento significativo na quantidade de leucócitos degenerados a partir de 24 horas nas amostras conservadas no tubo a vácuo a 25°C, 48 horas no tubo a vácuo a 4°C e 36 horas na estocagem na seringa, tanto a 4°C quanto a 25 °C.

Segundo WOOD et al. (2006), as alterações observadas na contagem diferencial manual de leucócitos, como diminuição do número de eosinófilos, neutrófilos, linfócitos e monócitos, se devem à degeneração morfológica das referidas células, concordando com o aumento de leucócitos degenerados no

presente estudo. Apesar da ocorrência de alterações morfológicas que levaram à redução significativa da contagem diferencial dos leucócitos no decorrer do tempo de estocagem, não houve diminuição estatisticamente significativa da contagem global de leucócitos.

De acordo com HOUWEN (2000), a preparação de esfregaços sangüíneos deve ser realizada até duas horas após a colheita das amostras conservadas à temperatura ambiente e até 8 horas das amostras a 4°C, a fim de evitar a degeneração morfológica dos leucócitos. A degeneração supracitada foi observada no estudo em tela, porém, o tempo de estabilidade das células foi superior ao citado por HOUWEN (2000) nas duas temperaturas de estocagem.

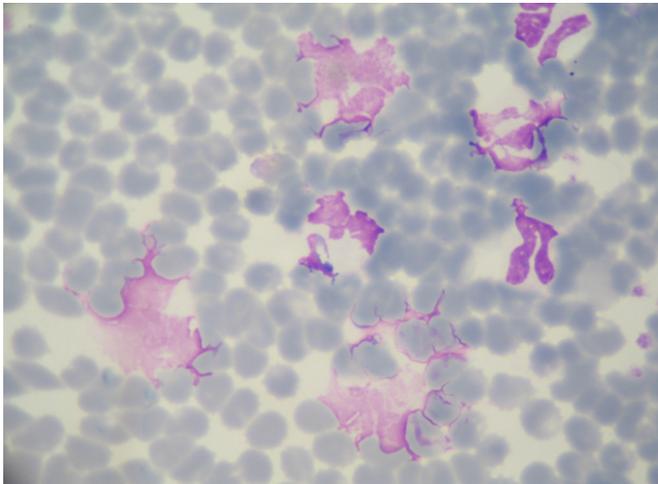


Figura 17. Leucócitos degenerados.

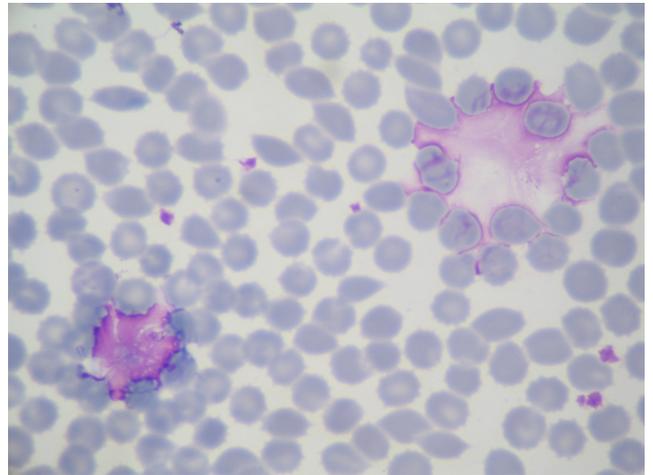


Figura 18. Leucócitos degenerados.

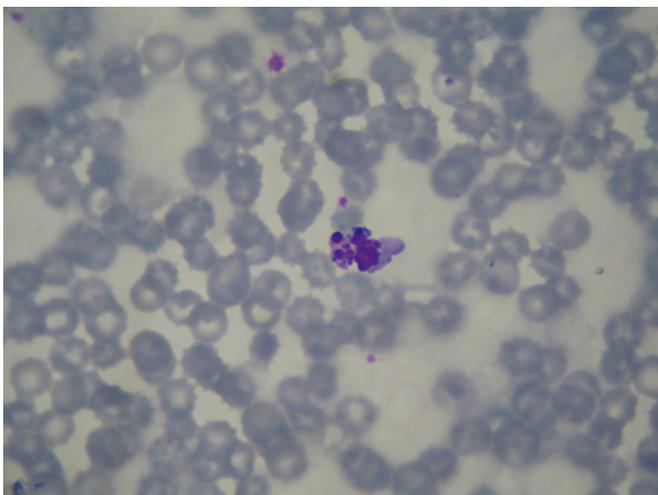


Figura 19. Leucócito em picnose.

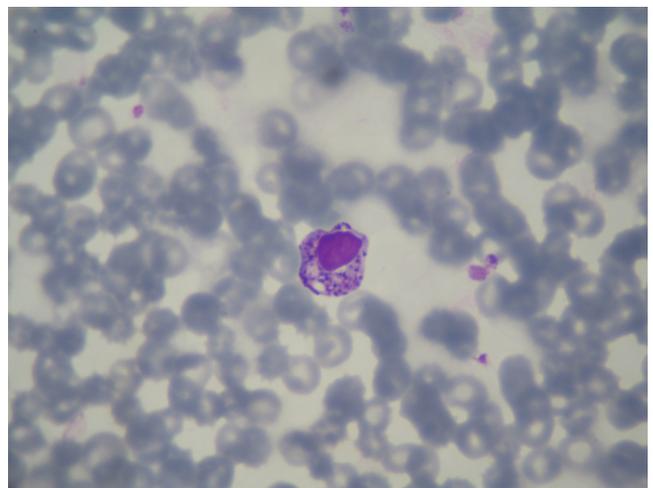


Figura 20. Leucócito em picnose.

4.3 Trombograma

4.3.1 Contagem de Plaquetas

Os valores médios obtidos para contagem de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 21.

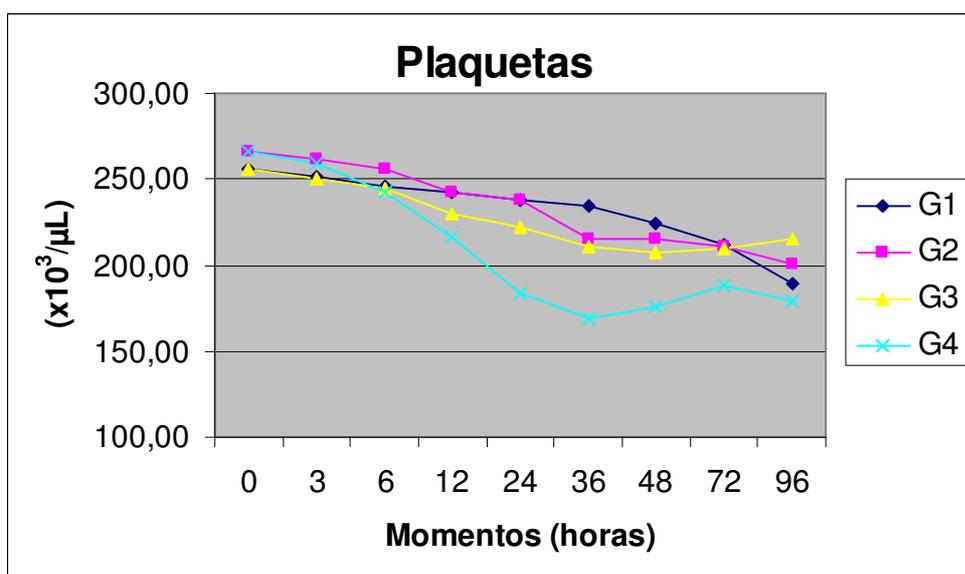


Figura 21. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para contagem de plaquetas em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

Os dados apresentados na figura 21 (apêndice 17) indicam que houve diminuição significativa na contagem de plaquetas a partir de 96 horas nas amostras estocadas a 4°C, na seringa e no tubo a vácuo, após 24 horas no tubo a vácuo a 25°C e não foi observada qualquer alteração significativa nas amostras conservadas na seringa a 25°C. Os achados da conservação à temperatura ambiente discordam dos resultados de PASTOR et al. (1997), os quais observaram estabilidade das plaquetas por 72 horas no tubo a vácuo; concordam

com achados de MÉDAILLE et al. (2006) que relataram diminuição das plaquetas após 24 horas no tubo a vácuo e concordam, em parte, com FURLANELLO et al. (2006) que encontraram diminuição da contagem de plaquetas após 36 horas no tubo a vácuo.

Os resultados obtidos para contagens de plaquetas 30 minutos após a retirada da temperatura de 4°C discordam dos achados de PASTOR et al. (1997), que realizaram a avaliação das plaquetas cinco minutos após a retirada das amostras da refrigeração e observaram diminuição da contagem de plaquetas após 6 horas de estocagem. Os mesmos dados corroboram achados de FURLANELLO et al. (2006), os quais avaliaram as plaquetas 30 minutos após a retirada da temperatura de 4°C, para permitir que as amostras retornassem à temperatura ambiente e relataram estabilidade das plaquetas estocadas na temperatura de refrigeração durante 48 horas.

Diante da divergência de resultados obtidos pelos autores supracitados, foi realizada, neste ensaio, avaliação das plaquetas também 5 minutos após retiradas da refrigeração, a fim de comparar com os dados das amostras avaliadas após 30 minutos.

Os valores médios obtidos para contagem de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C) e G2 (tubo a vácuo a 4°C) na avaliação das amostras após cinco e trinta minutos de retiradas da refrigeração estão expressos na figura e apêndice de número 22.

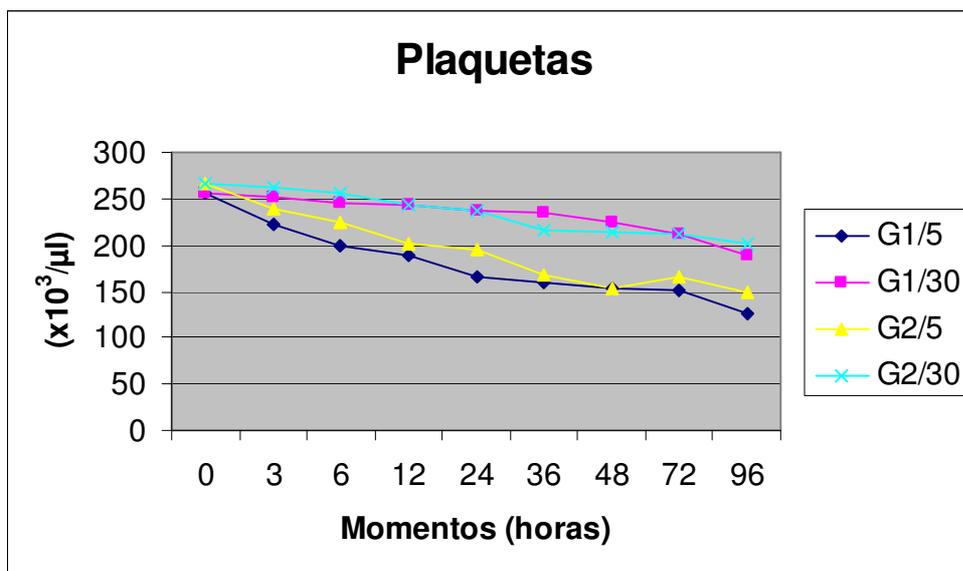


Figura 22. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para contagem de plaquetas em cães do grupo G1 (seringa a 4°C) e G2 (tubo a vácuo a 4°C) na avaliação das amostras após cinco e trinta minutos de retiradas da refrigeração, nos diferentes momentos (M1 a M9) de conservação das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

A partir dos dados apresentados na figura 22 (apêndice 18), verifica-se diferença significativa nas contagens de plaquetas entre os minutos de avaliação após refrigeração, a partir de 24 horas no grupo G1 e de 36 horas no grupo G2, sendo que os valores encontrados em cinco minutos foram menores que em trinta minutos, determinando que a divergência de resultados obtidos por PASTOR et al. (1997) e FURLANELLO et al. (2006) se deve às diferentes metodologias utilizadas pelos autores.

PASTOR et al. (1997) afirmaram que a diminuição na contagem de plaquetas ocorre devido à agregação plaquetária, um fenômeno que têm sido descrito em bovinos, eqüinos, suínos, cães e humanos e OLSEN et al. (2001) complementou relatando que, em humanos, a formação destes agregados ocorre com menos freqüência nas amostras estocadas a temperatura ambiente que nas amostras refrigeradas, isto pois, têm sido proposto que as plaquetas são ativadas quando entram em contato com o EDTA a baixas temperaturas. No presente

estudo, os valores de plaquetas se apresentaram reduzidos na avaliação das amostras cinco minutos após a retirada da refrigeração e aumentaram consideravelmente após as amostras retornarem à temperatura ambiente, ratificando a explicação descrita acima.

4.3.2 VPM

Os valores médios obtidos para VPM (fL) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 23.

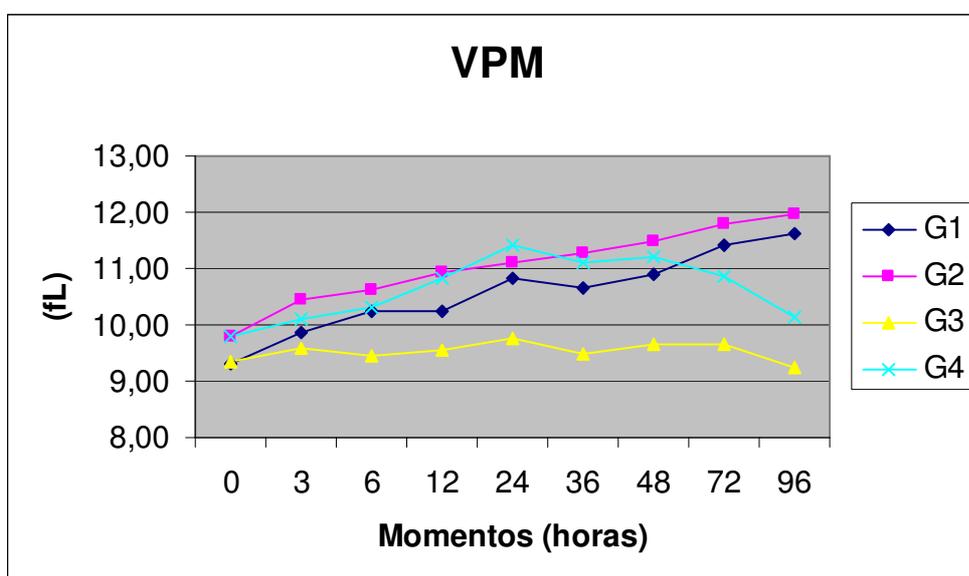


Figura 23. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para VPM em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

A partir dos dados da figura 23 (apêndice 19), verifica-se que ocorreu aumento significativo no valor do VPM, a partir de 12 horas nas amostras conservadas no tubo a vácuo, tanto a 4°C quanto a 25°C e de 24 horas na estocagem na seringa a 4°C. Não houve diferença significativa durante a

estocagem na seringa a 25°C. Estes dados corroboram achados de FURLANELLO et al. (2006), que observaram aumento do VPM após 12 horas de estocagem à temperatura ambiente no tubo a vácuo e discordam dos achados de PASTOR et al. (1997), os quais relataram estabilidade do VPM à temperatura ambiente e 4°C, no tubo a vácuo.

Segundo JAIN (1993), FELDMAN et al. (2000) E REBAR et al. (2003), podem ocorrer falsos aumentos do VPM quando as plaquetas estão expostas ao EDTA e são mantidas em ambiente frio ou refrigeradas, fato também observado no presente estudo. Este resultado ressalta a presença de agregados plaquetários nas amostras estocadas a 4°C, visto que plaquetas agregadas são aparentemente maiores e estas podem ser contadas como uma unidade plaquetária, elevando o VPM.

4.3.3 PDW

Os valores médios obtidos para PDW (fL) nos diferentes momentos para os grupos G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) estão expressos na figura e apêndice de número 24.

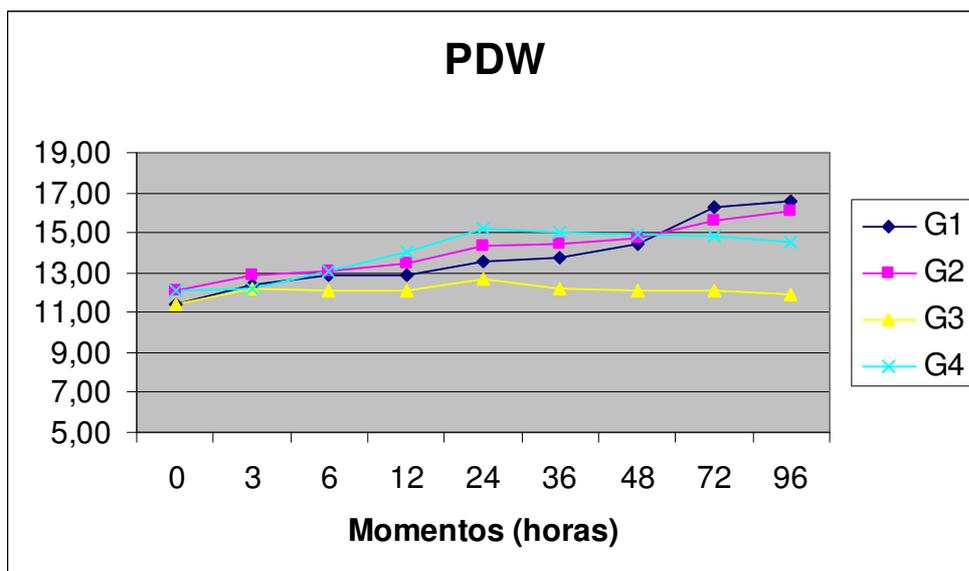


Figura 24. Representação gráfica das variações dos valores médios obtidos para PDW em cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (M1 a M9) de estocagem das amostras de sangue, Jaboticabal (SP), 2006.

O valor de PDW aumentou significativamente após 48 horas de estocagem nas amostras conservadas a 4°C, na seringa e no tubo a vácuo, após 24 horas no vácuo a 25°C e não houve diferença significativa durante a estocagem na seringa a 25°C. Estes valores corroboram, em parte, FURLANELLO et al. (2006), que relataram aumento do PDW após 48 horas de estocagem a 4°C e não observaram alterações na estocagem à temperatura ambiente e PASTOR et al. (1997), os quais relataram aumento do PDW após 24 horas de estocagem.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem as seguintes conclusões:

1. Os parâmetros contagem global de hemácias, concentração de hemoglobina, contagem global de leucócitos e contagem de basófilos se mantiveram estáveis durante todo o protocolo na estocagem à temperatura ambiente e 4°C, tanto na seringa, quanto no tubo a vácuo.
2. A determinação do hemograma das amostras estocadas na seringa a temperatura ambiente pode ser realizado até 12 horas para que não ocorra alteração em nenhum parâmetro, com exceção das plaquetas que não sofrem alteração durante a estocagem nas referidas condições.
3. A avaliação das amostras estocadas no tubo a vácuo a temperatura ambiente deve ser efetuada até 12 horas, a fim de evitar alteração em qualquer parâmetro do hemograma.
4. A determinação do hemograma após estocagem na seringa a 4°C pode ser realizada até 96 horas sem alteração em nenhum parâmetro.
5. A avaliação do hemograma das amostras estocadas no tubo a vácuo a 4°C pode ser feita até 96 horas, com exceção do VCM e CHCM que devem ser mensurados até 36 horas.
6. A avaliação das plaquetas cinco minutos após a retirada da refrigeração causa diminuição do número delas, portanto, a avaliação das amostras após retornarem à temperatura ambiente é mais confiável.
7. A refrigeração retarda ou evita as alterações que ocorrem nos parâmetros do hemograma durante a estocagem de sangue periférico de cães.
8. A seringa é um material mais apropriado que o tubo a vácuo para estocagem de sangue periférico de cães e posterior avaliação das características do hemograma, uma vez que a estocagem na seringa permite estabilidade dos parâmetros do hemograma por maior tempo que a estocagem no tubo a vácuo.

6. REFERÊNCIAS

AL-ISMAIL, S.A.; BOND, K.; CARTER, A.B.; GRANT, D.; MACHIN, S.J.; PATTERSON, K.G.; PEARMAN, K.J.; POLLARD, Y.C.; POPECK, M. Tow-centre evaluation of the Abbott CD3500 blood counter. **Clinical and Laboratory Haematology**, 17, 11-21, 1995.

BAILEY, D.N.; BOVE, J.R. Chemical and hematological changes in stored CPD blood. **Transfusion**, Philadelphia, 15(3), 244-249, 1975.

BRITTIN, G.M.; BRECHER, G.; JOHNSON, C.A.; ELASHOFF, R.M. Stability of blood in commonly used anticoagulants. **The American Journal of Clinical Pathology**, 52(6), 690-694, 1969.

BUTARELLO, M. Quality specification in haematology: the automated blood cell count. **Clinica Chimica Acta**, 346, 45-54, 2004.

COHLE, S.D.; ABDUS SALEEM, M.D.; DEBORAH, E. Effects of storage on stability of hematologic parameters. **American Society of Clinical Pathologists**, 76(1), 67-69, 1981.

COWGILL, E.S.; NEEL, J.A.; GRINDEM, C.B. Clinical application of reticulocyte counts in dogs and cats. **Veterinary Clinical of Small Animals**, 33, 1223-1244, 2003.

DUNCAN, JR.; PRASSE, K.W.; MAHAFFEY, E. **Veterinary laboratory medicine.**

3^a ed. Iowa:Ames, 1994. 300p.

ELLIOT, K. et al. Visualizing the hemolytic transfusion reaction. **Transfusion**, 43, 297, 2003.

FAGLIOLO, E.; MORES, N.; PELLICETTI, A. Biochemical parameters to assess viability of blood stored for transfusion use. **Folia Haematol.**, Leipzig, 113, 783-789, 1986.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, C.N. **Schalm's veterinary hematology.** 5^a ed. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2000. 1344p.

FIGHERA, R. A. **Anemia em medicina veterinária.** Santa Maria, 2001. 214p.

FURLANELLO, T; TASCA, S.; CALDIN, M.; PATRON, C.; TRANQUILLO, M.; LUBAS, G.; SOLANO-GALLEGU, L. Artifactual changes in canine blood following storage, detected using the ADVIA 120 hematology analyzer. **Veterinary Clinical Pathology**, 35(1), 42-46, 2006.

GREEN, H.H.; ATKINSON, S.M.; CARLOS, B.; SOBOL, B. Investigational studies of selected hematological parameters in fresh and mailed blood of six species of domestic animals. **Canadian Veterinary Journal**, 17(8), 213-215, 1976.

GULATTI, G.L.; HYLAND, L.J.; KOCHER, W.; SCHWARTING, R. Changes in automated complete blood cell count and differential leukocyte count results induced by storage of blood at room temperature. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, 126, 336-342, 2002.

HOUWEN, B. Blood film preparation and staining procedures. **Laboratory Hematology**, 6, 1-7, 2000.

JAIN, C.N. **Essential of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

KERR, M.G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária-bioquímica clínica e hematologia**. 2ª ed. Roca: São Paulo, 2003. 436p.

LATHAM, J. T.; BOVE, J. R.; WEIRICH, F.L. Chemical and hematologic changes in stored CPDA-1 blood. **Transfusion**, Philadelphia, 22, 158-159, 1982.

MÉDAILLE, C.; BRIEND-MARCHAL, A.; BRAUN, J.P. Stability of selected hematology variables in canine blood kept at room temperature in EDTA for 24 and 48 hours. **Veterinary Clinical Pathology**, 35(1), 18-23, 2006.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. **Medicina de laboratorio veterinaria**. 1ª ed. Roca: São Paulo, 1995. 270p.

OLSEN, A.K.; BLADBJERG, E.M.; JENSEN, A.L.; HANSEN, A.K. Effect of pre-analytical handling on haematological variables in minipigs. **Laboratory Animals**, 35, 147-152, 2000.

PASTOR, J.; CUENCA, R.; VELARDE, R.; VIÑAS, L.; LAVIN, S. Evaluation of a hematology analyzer with canine and feline blood. **Veterinary Clinical Pathology**, 26(3), 138-147, 1997.

REBAR, A.H. **Hemogram interpretation for dogs and cats**. Checkrboard Square: Ralston Purina Company, 1998. 89p.

REBAR, A.H.; MACWILLIAMS, P.S.; FELDMAN, B.F.; METZGER, F.L.; ROCHE, J. **Guia de hematologia para cães e gatos**. 1^a ed. Roca: São Paulo, 2003. 291p.

SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. **Statistical Methods**. 6.ed. Ames: Iowa State University Press, 1987. 593p.

TANAKA, K., SAWATANI, E., ROSENBLIT, J. et al. Alterações bioquímicas durante a preservação de sangue total e concentração de hemáceas com anticoagulantes CPD e CPDA-1. **Laes**, São Paulo, 9, 24-34, 1988.

THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2004. 518p.

WARNER, B.A.; REARDON, D.M. A field evaluation of the coulter STKS. **Hemopathology**, 95(2), 207-217, 1991.

WIDMAN, F.K. Technical manual of the American Association of Blood Banks. Arlington, VA: **American Association of Blood Banks**, 276-277, 1985.

WOOD, B.L.; ANDREWS, J.; MILLER, S.; SABATH, D.E. Refrigerated storage improves the stability of the complete blood cell count and automated differential. **The American Journal of Clinical Phatology**, 112, 687-695, 1999.

APÊNDICES

Apêndice 1 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem global de hemácias dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)		Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96	
1	6,88±0,68a	6,88±0,66a	6,89±0,64a	6,90±0,56a	6,88±0,61a	6,87±0,58a	6,85±0,56a	6,78±0,62a	6,80±0,64a	
2	7,28±0,65a	7,30±0,65a	7,29±0,66a	7,27±0,67a	7,24±0,69a	7,21±0,66a	7,14±0,69a	7,02±0,67a	7,09±0,68a	
3	6,88±0,68a	6,75±0,67a	6,69±0,65a	6,58±0,65a	6,56±0,62a	6,58±0,64a	6,62±0,60a	6,69±0,65a	6,80±0,69a	
4	7,28±0,65a	7,14±0,68a	7,08±0,66a	6,92±0,66a	6,82±0,62a	6,82±0,60a	6,83±0,64a	6,98±0,68a	7,16±0,66a	
CV	9,63									

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 2 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para concentração de hemoglobina dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)		Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96	
1	16,91±1,53a	16,85±1,50a	16,90±1,31a	16,93±1,27a	17,01±1,22a	17,00±1,19a	17,04±1,24a	16,88±1,46a	17,06±1,44a	
2	17,84±1,48a	17,88±1,50a	17,83±1,52a	17,82±1,49a	17,80±1,56a	17,70±1,49a	17,62±1,54a	17,36±1,47a	17,46±1,54a	
3	16,91±1,53a	16,77±1,45a	16,89±1,43a	16,77±1,44a	16,85±1,50a	16,84±1,48a	16,84±1,46a	16,85±1,44a	16,75±1,40a	
4	17,84±1,48a	17,78±1,50a	17,82±1,48a	17,74±1,53a	17,64±1,52a	17,57±1,49a	17,50±1,62a	17,45±1,55a	17,36±1,38a	
CV	8,58									

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 3 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para hemoglobina livre dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)		Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96	
1	0,19±0,08d	0,22±0,09cd	0,26±0,11bcd	0,25±0,12bcd	0,34±0,16abc	0,36±0,18ab	0,45±0,24a	0,47±0,27a	0,49±0,24a	
2	0,19±0,08c	0,25±0,10bc	0,27±0,11abc	0,28±0,11abc	0,34±0,14ab	0,30±0,12abc	0,36±0,15ab	0,36±0,15ab	0,40±0,17a	
3	0,19±0,08d	0,21±0,10d	0,22±0,11d	0,22±0,10d	0,28±0,12cd	0,29±0,11cd	0,36±0,17bc	0,48±0,20b	0,72±0,27a	
4	0,19±0,08d	0,20±0,09d	0,21±0,09d	0,22±0,09d	0,23±0,10cd	0,28±0,14cd	0,36±0,16c	0,63±0,17b	0,93±0,20a	
CV	12,14									

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 4 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para hematócrito dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	50,07±4,81a	50,12±4,47a	50,42±4,55a	50,34±3,91a	50,41±4,20a	50,44±3,95a	50,45±3,89a	50,50±4,60a	51,22±4,72a
2	52,85±4,61a	53,26±4,55a	53,51±4,64a	53,55±4,84a	54,08±4,90a	54,34±4,75a	54,28±5,07a	54,00±5,15a	55,35±5,24a
3	50,07±4,81d	50,45±4,75d	50,01±4,54cd	51,33±4,57cd	53,14±4,64bcd	55,14±5,23bc	57,21±4,89ab	60,20±5,18a	60,52±4,60a
4	52,85±4,61c	52,50±4,61c	52,71±4,30c	52,66±4,31c	54,21±4,25bc	55,16±4,34abc	57,49±4,87ab	59,06±5,33a	57,78±5,62ab
CV	10,16								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 5 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para VCM dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	72,85±1,77b	72,88±1,78ab	73,26±2,02ab	72,94±1,81ab	73,34±1,91ab	73,50±1,90ab	73,77±2,06ab	74,51±2,04ab	75,36±2,28a
2	72,69±1,85e	73,03±1,97de	73,48±1,94de	73,76±2,05cde	74,78±2,10bcde	75,44±2,16bcd	76,12±2,32abc	76,95±2,94ab	78,12±2,38a
3	72,85±1,77g	74,85±2,00fg	76,34±2,13ef	78,04±2,24e	81,04±2,58d	83,81±2,52c	86,97±2,95b	90,14±2,95a	89,25±3,92ab
4	72,69±1,85d	73,57±1,95d	74,55±2,05cd	76,18±2,41c	79,58±3,02b	81,12±4,70b	84,35±3,52a	84,77±3,72a	80,79±3,85b
CV	7,14								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 6 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para HCM dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	24,61±0,84a	24,54±0,81a	24,57±0,83a	24,53±0,85a	24,78±0,97a	24,77±1,01a	24,93±1,03a	24,93±0,85a	25,12±0,92a
2	24,56±0,88a	24,51±0,77a	24,50±0,92a	24,56±0,79a	24,62±0,89a	24,59±0,90a	24,73±0,87a	24,77±0,88a	24,66±0,91a
3	24,61±0,84c	24,90±0,91abc	25,17±0,87abc	25,50±0,89ab	25,69±0,75a	25,61±0,79a	25,46±0,69abc	25,21±0,78abc	24,67±0,86bc
4	24,56±0,88cd	24,93±1,04bcd	25,20±0,97abc	25,66±0,80ab	25,85±0,68a	25,79±0,80a	25,66±0,78ab	25,02±0,79abcd	24,30±0,82d
CV	3,79								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 7 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para CHCM dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)		Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96	
1	33,79±0,67a	33,62±0,56a	33,56±0,76a	33,64±0,80a	33,78±0,83a	33,73±0,83a	33,79±0,93a	33,46±0,69a	33,35±0,87a	
2	33,79±0,77a	33,57±0,59a	33,34±0,74ab	33,30±0,64ab	32,94±0,72abc	32,59±0,64bc	32,49±0,78bc	32,22±1,30cd	31,59±0,95d	
3	33,79±0,67a	33,28±0,74ab	32,98±0,60ab	32,69±0,70b	31,70±0,69c	30,57±0,84d	29,27±0,85e	28,01±0,88f	27,66±0,91f	
4	33,79±0,77a	33,90±0,95a	33,81±0,82a	33,68±0,69a	32,52±1,06b	31,91±2,17b	30,46±1,30c	29,56±1,18c	30,11±1,29c	
CV	5,91									

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas inhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 8 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de reticulócitos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)		Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96	
1	0,03±0,02a	0,02±0,02a	0,02±0,02a	0,02±0,02a	0,02±0,02a	0,02±0,01a	0,02±0,02a	0,02±0,01a	0,01±0,01a	
2	0,03±0,03a	0,03±0,03a	0,03±0,02a	0,03±0,02a	0,02±0,02a	0,03±0,02a	0,02±0,02a	0,02±0,02a	0,02±0,02a	
3	0,03±0,02a	0,03±0,02a	0,02±0,02a	0,02±0,02a	0,02±0,01a	0,02±0,01a	0,02±0,01a	0,01±0,01a	0,01±0,01a	
4	0,03±0,03a	0,03±0,02a	0,03±0,02ab	0,03±0,02ab	0,02±0,02ab	0,02±0,02ab	0,02±0,02ab	0,01±0,02ab	0,01±0,01b	
CV	1,78									

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 9 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem global de leucócitos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)		Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96	
1	8,75±2,24a	9,21±2,35a	9,30±2,98a	9,02±2,36a	9,03±2,23a	9,04±2,30a	9,41±2,44a	9,32±2,32a	9,82±2,42a	
2	9,49±2,69a	9,81±2,67a	9,76±2,70a	9,75±2,71a	9,64±2,45a	9,69±2,75a	9,78±2,71a	9,86±3,01a	9,93±2,53a	
3	8,75±2,24a	8,50±2,10a	8,40±2,23a	8,41±2,19a	8,39±2,11a	8,31±2,20a	8,68±2,30a	8,81±2,39a	9,07±2,49a	
4	9,49±2,69a	9,74±2,69a	9,86±2,88a	9,77±2,44a	10,02±2,50a	10,07±3,19a	9,64±2,65a	9,71±2,57a	9,78±2,49a	
CV	12,38									

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 10 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de basófilos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	0,02±0,04a	0,03±0,05a	0,02±0,03a	0,02±0,04a	0,02±0,05a	0,02±0,08a	0,02±0,06a	0,00±0,00a	0,00±0,02a
2	0,03±0,05a	0,03±0,06a	0,02±0,09a	0,02±0,06a	0,02±0,05a	0,03±0,06a	0,01±0,04a	0,01±0,03a	0,01±0,03a
3	0,02±0,04a	0,01±0,03a	0,01±0,04a	0,02±0,04a	0,01±0,03a	0,02±0,06a	0,01±0,03a	0,00±0,00a	0,00±0,01a
4	0,03±0,05a	0,00±0,01a	0,00±0,02a	0,02±0,06a	0,01±0,03a	0,01±0,02a	0,01±0,04a	0,00±0,00a	0,00±0,00a
CV	3,95								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas inhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 11 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de eosinófilos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	0,77±0,51a	0,85±0,61a	0,83±0,58a	0,70±0,63a	0,70±0,47a	0,74±0,48a	0,76±0,61a	0,74±0,66a	0,69±0,57a
2	0,82±0,71a	0,83±0,66a	0,73±0,54a	0,84±0,69a	0,87±0,71a	0,73±0,57a	0,83±0,75a	0,75±0,55a	0,61±0,52a
3	0,77±0,51a	0,79±0,52a	0,76±0,50a	0,72±0,51a	0,73±0,55a	0,78±0,57a	0,73±0,74a	0,39±0,44ab	0,06±0,11b
4	0,82±0,71a	0,86±0,61a	0,93±0,69a	0,88±0,48a	0,92±0,60a	0,72±0,57a	0,50±0,48ab	0,19±0,22b	0,08±0,11b
CV	23,60								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 12 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de neutrófilos bastonetes dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	0,12±0,10a	0,14±0,12a	0,06±0,09a	0,09±0,10a	0,09±0,08a	0,07±0,07a	0,09±0,11a	0,08±0,07a	0,09±0,10a
2	0,20±0,17a	0,10±0,10b	0,10±0,07b	0,09±0,11b	0,11±0,09ab	0,15±0,08ab	0,14±0,15ab	0,10±0,08b	0,08±0,09b
3	0,12±0,10a	0,09±0,11a	0,09±0,07a	0,11±0,10a	0,06±0,07a	0,10±0,11a	0,07±0,09a	0,05±0,07a	0,04±0,08a
4	0,20±0,17a	0,10±0,09b	0,08±0,07b	0,05±0,06b	0,06±0,09b	0,03±0,06b	0,03±0,05b	0,06±0,09b	0,02±0,05b
CV	8,18								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 13 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de neutrófilos segmentados dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	5,68±1,44a	5,74±1,54a	5,60±1,97a	5,42±1,54a	5,36±1,54a	5,36±1,55a	5,30±1,49a	4,93±1,47a	4,83±1,38a
2	5,92±1,61a	6,01±1,79a	5,95±1,93a	5,73±1,87a	5,79±1,57a	5,72±1,87a	5,57±1,47a	5,52±1,70a	5,27±1,76a
3	5,68±1,44a	5,34±1,45a	5,15±1,53a	5,20±1,57a	5,18±1,34a	4,92±1,33a	4,87±1,50a	4,45±1,42ab	3,50±1,95b
4	5,92±1,61a	5,96±1,78a	6,18±2,06a	5,96±1,69a	5,91±1,73a	6,08±2,21a	5,27±1,81ab	3,97±1,24b	2,63±1,29c
CV	15,13								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Apêndice 14 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de linfócitos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	1,44±0,53a	1,63±0,69a	1,74±0,55a	1,68±0,62a	1,65±0,62a	1,46±0,64a	1,71±0,65a	1,53±0,66a	1,51±0,76a
2	1,80±0,66a	1,95±0,74a	1,89±0,56a	1,76±0,57a	1,77±0,84a	1,75±0,68a	1,77±0,69a	1,66±0,93a	1,64±0,67a
3	1,44±0,53a	1,49±0,57a	1,41±0,52a	1,35±0,45a	1,21±0,50a	1,10±0,40ab	1,18±0,40ab	1,02±0,49ab	0,68±0,28b
4	1,80±0,66a	1,84±0,67a	1,56±0,57ab	1,62±0,59ab	1,53±0,68ab	1,34±0,74abc	1,13±0,54bc	0,91±0,59cd	0,58±0,36d
CV	17,46								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Apêndice 15 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de monócitos dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	0,25±0,17a	0,28±0,22a	0,31±0,21a	0,29±0,18a	0,27±0,22a	0,27±0,23a	0,27±0,14a	0,25±0,23a	0,21±0,23a
2	0,24±0,16ab	0,27±0,15ab	0,25±0,21ab	0,42±0,23a	0,22±0,26b	0,25±0,28ab	0,21±0,14b	0,21±0,19b	0,20±0,20b
3	0,25±0,17a	0,24±0,18a	0,23±0,17a	0,20±0,18a	0,25±0,20a	0,14±0,11ab	0,16±0,17ab	0,02±0,03b	0,03±0,07b
4	0,24±0,16a	0,27±0,13a	0,25±0,19a	0,22±0,19ab	0,26±0,18a	0,11±0,12abc	0,06±0,08bc	0,01±0,02c	0,03±0,09c
CV	13,21								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Apêndice 16 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de leucócitos degenerados dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)		Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96	
1	0,47±0,28e	0,57±0,40de	0,74±0,27cde	0,80±0,36cde	0,96±0,31cd	1,12±0,49c	1,26±0,54bc	1,78±0,69b	2,49±1,06a	
2	0,47±0,28e	0,62±0,36de	0,79±0,34cde	0,89±0,40cde	0,91±0,30cde	1,06±0,55bcd	1,25±0,48bc	1,62±0,67ab	2,11±0,74a	
3	0,47±0,28f	0,54±0,28ef	0,73±0,30def	0,80±0,28def	0,95±0,37de	1,25±0,47cd	1,66±0,70c	2,87±1,08b	5,21±2,81a	
4	0,47±0,28g	0,71±0,35fg	0,86±0,49efg	1,02±0,43ef	1,33±0,38de	1,79±0,69d	2,64±0,95c	4,56±2,03b	6,43±2,27a	
CV	32,58									

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 17 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de plaquetas dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)		Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96	
1	256,4±60,34a	251,0±64,01a	245,4±62,98ab	242,9±61,18ab	237,6±62,25ab	234,1±61,53ab	224,4±68,76ab	212,3±70,40ab	189,2±60,37b	
2	265,9±64,96a	262,1±66,81ab	255,5±69,59ab	242,3±74,59ab	238,0±65,79ab	215,5±56,35ab	214,8±63,79ab	211,0±61,45ab	200,5±52,61b	
3	256,4±60,34a	250,4±58,95a	244,5±61,56a	229,5±61,78a	221,7±63,18a	210,8±57,52a	207,1±60,36a	210,0±62,53a	215,0±69,38a	
4	265,9±64,96a	259,5±64,25a	241,9±60,11ab	215,9±62,48abc	184,0±68,44c	168,5±80,35c	175,8±70,37c	187,8±59,62bc	179,3±58,19c	
CV	15,04									

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Apêndice 18 - Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para contagem de plaquetas dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C) e G2 (tubo a vácuo a 4°C) na avaliação das amostras após cinco e trinta minutos de retiradas da refrigeração nos diferentes momentos (horas) de conservação, Jaboticabal (SP), 2006.

		Momentos (horas)								
Min		0	3	6	12	24	36	48	72	96
G1	5	256,4±60,3A	222,6±83,0A	199,8±87,4B	188,2±83,4B	165,0±93,7B	160,0±84,2C	153,2±85,2B	151,8±75,4B	124,9±72,1B
	30	256,4±60,3A	251,0±60,0A	245,4±63,0AB	242,9±61,2A	237,6±62,2A	234,1±61,5A	224,4±68,8A	212,3±70,4A	189,2±60,4A
G2	5	265,9±64,9A	238,5±80,8A	224,3±81,0AB	200,4±88,8AB	194,7±80,8AB	166,8±68,5BC	152,7±67,9B	165,3±73,8AB	149,7±56,1AB
	30	265,9±64,9A	262,1±66,8A	255,5±69,6A	242,3±74,6A	238,0±65,8A	215,5±56,3AB	214,8±63,8A	211,0±61,4A	200,5±52,6A
CV		20,17								

Médias seguidas por mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

G1- grupo 1; G2- grupo 2; Min- minutos.

Apêndice 19 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para VPM dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	9,33±1,02c	9,87±1,02bc	10,25±1,02bc	10,23±0,91bc	10,84±1,27ab	10,67±0,96ab	10,89±0,92ab	11,43±0,87a	11,64±0,88a
2	9,81±1,00d	10,45±1,05cd	10,61±1,02cd	10,93±1,04bc	11,12±0,97abc	11,27±0,97abc	11,47±0,90abc	11,80±0,79ab	11,97±0,87a
3	9,33±1,02a	9,58±1,14a	9,45±1,11a	9,54±1,08a	9,77±1,10a	9,50±1,08a	9,66±0,97a	9,67±0,98a	9,24±0,84a
4	9,81±1,00d	10,11±1,02cd	10,31±1,12bcd	10,84±1,17abc	11,43±1,08a	11,12±1,16abc	11,21±1,08ab	10,85±1,39abc	10,13±1,70cd
CV	12,39								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Apêndice 20 – Valores médios e respectivos desvios-padrão obtidos para PDW dos cães do grupo G1 (seringa a 4°C), G2 (tubo a vácuo a 4°C), G3 (seringa a 25°C) e G4 (tubo a vácuo a 25°C) nos diferentes momentos (horas) de conservação das amostras de sangue (FCAV/Unesp-Jaboticabal, 2006).

(n=20)	Momentos (horas)								
Grupos	0	3	6	12	24	36	48	72	96
1	11,41±1,84c	12,38±2,05bc	12,91±2,06bc	12,87±1,86bc	13,60±1,96bc	13,78±2,59bc	14,41±2,55ab	16,32±3,30a	16,54±2,87a
2	12,05±1,65d	12,84±2,34cd	13,09±2,23cd	13,50±2,27bcd	14,38±2,84abcd	14,45±2,76abcd	14,69±2,50abc	15,55±2,50ab	16,06±2,75a
3	11,41±1,84a	12,24±2,44a	12,06±2,24a	12,07±2,32a	12,64±2,47a	12,15±2,60a	12,10±2,13a	12,06±2,11a	11,95±2,02a
4	12,05±1,65c	12,21±1,90bc	13,03±2,20abc	14,09±2,71abc	15,23±2,38a	15,00±2,91a	14,93±2,90a	14,79±3,28a	14,56±3,56ab
CV	20,68								

Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Apêndice 21 - Valores hematológicos de referência para cães normais.

Parâmetros Hematológicos	Valores de Referência
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5,5 – 8,5
Hemoglobina (g/dL)	12 - 18
Hematócrito (%)	37 - 55
VCM (fL)	60 - 77
HCM (pg)	19,5 – 24,5
CHCM (%)	32 - 36
Leucócitos/ μL	6.000 – 17.000
Basófilos	Raros
Eosinófilos	100 – 1.250
Neutrófilos Bastonetes	0 - 300
Neutrófilos Segmentados	3.000 – 11.500
Linfócitos	1.000 – 4.800
Monócitos	150 – 1.350
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	200 - 500
VPM (fL)	6,7 – 11,1

Fonte: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, C.N. **Schalm's veterinary hematology**. 5ª ed. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2000. 1344p.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)