

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA UNIPROFISSIONAL EM MEDICINA
VETERINÁRIA

FLÁVIA PRATA LINHARES

INFLUÊNCIA DO ARMAZENAMENTO DO SANGUE BOVINO POR
24 E 48 HORAS À TEMPERATURA AMBIENTE E DE
REFRIGERAÇÃO SOBRE OS VALORES HEMATOLÓGICOS

Trabalho de conclusão de residência

Revista para submissão: Ciência Animal
Brasileira – UFG

Área de concentração: Patologia Clínica
Veterinária

Tutor: Prof. Dr. Antonio Vicente Mundim

UBERLÂNDIA – MG

2019

Sumário

Resumo	3
Introdução	4
Material e Métodos	5
Resultados	6
Discussão.....	11
Conclusões	13
Referências.....	13

1 **INFLUÊNCIA DO ARMAZENAMENTO DO SANGUE BOVINO**
2 **POR 24 E 48 HORAS À TEMPERATURA AMBIENTE E DE**
3 **REFRIGERAÇÃO SOBRE OS VALORES HEMATOLÓGICOS**

4 *INFLUENCE OF STORAGE OF BOVINE BLOOD FOR 24 AND 48 HOURS AT*
5 *ENVIRONMENTAL TEMPERATURE AND REFRIGERATION ON*
6 *HEMATOLOGICAL VALUES*

7
8 **Resumo**

9 Este trabalho teve como objetivo avaliar os parâmetros hematológicos, levando em
10 consideração o tempo e a temperatura de armazenamento das amostras de sangue. Para
11 isso utilizou-se amostras sanguíneas de 53 bovinos jovens e adultos, sendo 30
12 armazenadas em temperatura ambiente por 24 e 48 horas e 23 armazenadas refrigeradas
13 pelo mesmo intervalo de tempo. Cada amostra foi dividida em duas alíquotas de 1 mL,
14 em microtubos totalizando 106 alíquotas. Avaliou-se em cada alíquota os elementos do
15 eritrograma, leucograma e plaquetograma. Para a análise estatística utilizou-se o teste
16 ANOVA e Kruskal-Wallis. Quando foram detectadas diferenças estatísticas em nível de
17 significância de 5%, realizou-se, respectivamente, os pós-testes de Tukey e Dunn para
18 evidenciar as diferenças estatísticas entre as médias nos momentos 0, 24 e 48 horas. Os
19 elementos do eritrograma foram estatisticamente semelhantes, já o volume plaquetário
20 médio (VPM), os neutrófilos em bastonetes, eosinófilos e monócitos diferiram
21 significativamente quando armazenados por 24 e 48 horas. Conclui-se que o tempo e a
22 temperatura de armazenamento até 48 horas interferem no número de neutrófilos em
23 bastonetes, eosinófilos e monócitos e no volume plaquetário médio (VPM).

24 **Palavras-chave:** armazenamento; eritrograma; plaquetograma; leucograma.

25
26 **Abstract**

27 This study aimed to evaluate hematological parameters, taking into consideration the
28 storage time and temperature of the blood samples. Blood samples were collected from
29 53 young, and adult cattle, 30 of which were stored at room temperature for 24 and 48
30 hours and stored refrigerated for the same period. Each sample was divided into two
31 aliquots of 1 mL, into microtubes totaling 106 aliquots. The elements of the
32 erythrogram, leukogram and platelet were evaluated in each aliquot. For the statistical
33 analysis, the ANOVA and Kruskal-Wallis tests were used. When statistical differences
34 were detected at a significance level of 5%, Tukey and Dunn post-tests were performed
35 to show statistical differences between the means at moments 0, 24 and 48 hours. The
36 erythrogram elements were statistically similar; mean platelet volume (MVP),
37 neutrophils in rods, eosinophils, and monocytes differed significantly when stored for
38 24 and 48 hours. It was concluded that storage time and temperature for up to 48 hours
39 interfere with the number of neutrophils in rods, eosinophils, and monocytes and mean
40 platelet volume (MPV).

41 **Keywords:** storage; erythrogram; platelet; leukogram.

42
43
44
45
46

Introdução

47

48

49 Para diferentes informações sobre como o animal se encontra, normalmente o
50 hemograma é um dos exames mais solicitado na rotina ⁽¹⁾, o que faz com que tenha uma
51 melhor visão do paciente como um todo, podendo observar alterações que não são
52 visíveis ao exame clínico ⁽²⁾.

53 No geral, o hemograma é constituído pelo eritrograma (célula vermelhas), leucograma
54 (células brancas) e plaquetograma ^(1,2). Sendo assim, cada um possui uma
55 especificidade, o eritrograma avalia o hematócrito, contagem de hemácias e teor da
56 hemoglobina. Com os valores dos parâmetros obtidos acima, consegue-se calcular o
57 volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) ⁽¹⁾, sendo
58 esta de menos importância que a concentração de hemoglobina corpuscular média
59 (CHCM), que também é um parâmetro calculado.

60 Quanto ao leucograma, basicamente realiza-se a leucometria (contagem total de
61 leucócitos) e a citologia (contagem diferencial de leucócitos), e com relação ao
62 plaquetograma que é a contagem de plaquetas ^(1,2) e o valor do volume plaquetário
63 médio (VPM), sendo observadas as possíveis alterações quantitativas e qualitativas ⁽¹⁾.

64 Para obtenção de resultados precisos, é necessário levar em consideração algumas
65 etapas de realização, como a pré-analítica, analítica e pós-analítica, podendo ocorrer
66 erros em todas elas. A etapa pré-analítica é a que antecede a realização do exame, desde
67 a colheita do sangue ao transporte até o laboratório para análise. A analítica corresponde
68 à realização do hemograma dentro do laboratório e a pós-analítica, ocorre quando há
69 erro de digitação ou até mesmo interpretação equivocada da morfologia celular na
70 lâmina ⁽³⁾.

71 Em alguns casos de coleta de sangue em animais de grande porte, em fazendas, as
72 amostras precisam ser transportadas até o laboratório e estão sujeitas a permanecerem
73 em temperaturas ambientes por algumas horas, seja por falta de refrigeração ou por
74 atraso no transporte ⁽⁴⁾. Sabe-se que dependendo da forma de armazenamento da
75 amostra os resultados obtidos podem ser influenciados de forma positiva ou negativa
76 ^(5,6).

77 Sendo assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a influência do armazenamento do
78 sangue bovino por 24 e 48 horas à temperatura ambiente (25° C) e de refrigeração (4° C
79 a 8° C), sobre os valores das variáveis hematológicas em 53 bovinos jovens e adultos da
80 raça Bonsmara e correlacionar as possíveis alterações como o tempo de armazenamento.

Material e Métodos

81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114

O experimento foi realizado na Fazenda Barra Grande, localizada no Distrito Cruzeiro dos Peixotos e no laboratório clínico veterinário do hospital veterinário da Universidade Federal de Uberlândia. Foram coletadas amostras de 4 mililitros de sangue por punção da veia jugular utilizando agulhas 25x8, acopladas a tubos vacuntainer contendo EDTA K₃ como anticoagulante, de 53 bovinos machos e fêmeas, jovens e adultos de idades variadas, da raça Bonsmara, selecionados aleatoriamente em um plantel de aproximadamente 700 animais. As amostras foram coletadas sempre no período da manhã (entre 8:00 e 10:00 horas) e armazenadas em tubos contendo EDTA K₃ como anticoagulante. Logo após a coleta as amostras foram transportadas em caixas isotérmicas, ao Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, onde foram analisadas.

No mesmo dia da coleta das amostras de sangue foram realizados os hemogramas dos 53 bovinos, utilizando o analisador automático de células sanguíneas veterinário Poch-100iV – Sysmex, avaliando os seguintes elementos: hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (CHCM), red cell distribution width (RDW), plaquetas, volume plaquetário médio (VPM) e a leucometria.

A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em extensões sanguíneas coradas pelo método May-Grünwald-Giemsa, utilizando a objetiva de imersão, sendo identificadas e contadas 100 células, estabelecendo a fórmula leucocitária relativa e calculados os valores absolutos para cada tipo celular⁽⁷⁾.

Para avaliação do tempo de armazenamento nas duas temperaturas, o restante de sangue de cada uma das 53 amostras foram divididas duas alíquotas de 1 mL em microtubos, totalizando 106 alíquotas. Destas, 30 foram mantidas à temperatura ambiente (25°C) por 24 horas e outras 30 por 48 horas. Das 46 alíquotas restantes 23 foram armazenadas em temperatura de refrigeração (4°C a 8°C) por 24 horas e outras 23 por 48 horas, respectivamente. De todas as alíquotas armazenadas foram realizados novos hemogramas utilizando as mesmas metodologias e analisando os mesmos elementos acima mencionados.

Os resultados obtidos na análise das 30 e 23 amostras, respectivamente, no dia da coleta foram utilizados como controle (momento zero), para serem confrontados com os

115 obtidos nos outros tempos de armazenamento em cada uma das temperaturas de
116 armazenamento.

117 Trata-se de um estudo inteiramente casualizado, realizado para avaliar o efeito do tempo
118 de armazenamento (i.e. 0, 24 e 48 horas) em variáveis hematológicas de bovinos da raça
119 Bonsmara, incubadas em diferentes temperaturas (i.e. temperatura ambiente – 25°C e
120 refrigeração – 4°C a 8°C). Foram utilizadas 30 repetições para o armazenamento em
121 temperatura ambiente e 23 repetições para o armazenamento sob refrigeração para cada
122 momento respectivamente.

123 Para o tratamento estatístico as variáveis hematológicas foram obtidas e tabuladas para
124 obtenção da estatística descritiva (i.e. média e desvio padrão). Em seguida, os dados
125 foram testados quanto à homocedasticidade e normalidade.

126 Para comparação dos índices eritrocitários, plaquetários e leucocitários foi realizado o
127 teste KS (Kolmogorov-Smirnov) para avaliação do tipo de distribuição estatística e,
128 posteriormente, os dados paramétricos (gaussianos) foram avaliados pelo método de
129 análise de variância (ANOVA), enquanto os dados não paramétricos (não gaussianos)
130 foram avaliados pelo método de Kruskal-Wallis. Quando foram detectadas diferenças
131 estatísticas em nível de significância igual a 5% ($p < 0,05$), realizou-se, respectivamente,
132 os pós-testes de Tukey e Dunn para evidenciar as diferenças estatísticas entre as médias
133 dos momentos 0, 24 e 48 horas.

134 Todas as análises foram realizadas no software GraphPad Prism[®] 6.0. Os tratamentos
135 estatísticos também foram utilizados por Gadelha et al⁽⁸⁾ e Leidentz e Lazarotto⁽¹⁾.

136 O experimento seguiu as normas e princípios éticos da experimentação animal, com
137 aprovação da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade
138 Federal de Uberlândia, conforme protocolo nº 053/2018.

139

140

Resultados

141 Os resultados obtidos e as variações dos valores dos elementos do eritrograma,
142 leucograma e plaquetograma das amostras de sangue no momento zero e nas amostras
143 mantidas por 24 e 48 horas à temperatura ambiente (25° C) e sob refrigeração (4°C a 8°
144 C) encontram-se nas tabelas 1, 2, 3 e 4.

145

146

147 **Tabela 1** – Médias e desvios padrão dos elementos do eritrograma e plaquetograma em amostras de sangue de 30 bovinos hígidos da raça Bonsmara,
 148 armazenadas à temperatura ambiente em diferentes intervalos de tempo (zero, 24 e 48 horas).

Elemento	Zero	24 horas	Diferença ³ %	48 horas	Diferença ⁴ %
	Média ± DP	Média ± DP		Média ± DP	
Hemácias ¹ x 10 ⁶ /μL	7,79 ± 0,99 a	7,74 ± 1,01 a	-0,64	7,90 ± 1,03 a	+ 1,41
Hemoglobina ¹ g/dL	10,77 ± 1,07 a	10,68 ± 1,07 a	-0,84	10,86 ± 1,13 a	+ 0,83
Hematócrito ¹ %	33,13 ± 3,05 a	33,58 ± 3,13 a	+1,36	34,92 ± 3,54 a	+ 5,40
VCM ¹ μm ³	42,78 ± 3,23 a	43,68 ± 3,35 a	+2,10	44,46 ± 3,35 a	+ 3,92
CHCM ² %	32,53 ± 1,74 a	31,83 ± 1,92 a	-2,15	31,17 ± 1,98 a	- 4,18
RDW ² %	20,93 ± 3,46 a	20,53 ± 3,10 a	-1,91	19,93 ± 3,15 a	- 4,78
Plaquetas ¹ x 10 ³ / μL	359,36 ± 214,63 a	282,76 ± 185,47 a	-21,32	268,73 ± 175,15 a	-25,22
VPM ² fL	6,64 ± 0,62 a	7,07 ± 0,77 a	+ 6,47	7,01 ± 0,67 a	+ 5,57

149 **Legenda:** VCM: Volume corpuscular médio, CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média, RDW: red cell distribution width, VPM: Volume
 150 plaquetário médio. (a, b) - letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística (p<0,05): 1. Variáveis com distribuição gaussiana foram avaliadas por
 151 método paramétrico; 2. Variáveis com distribuição não gaussiana foram avaliadas por método não paramétrico; 3. Diferença do momento zero para o momento
 152 24 horas; 4. Diferença do momento zero para momento 48 horas.

154 Confrontados os valores obtidos para os elementos do eritrograma e plaquetograma entre os momentos analisados, não obtiveram diferenças
 155 estatísticas significativas (tabela 1).

156

157

158 **Tabela 2** – Média e desvios padrão dos elementos do leucograma em amostras de sangue de 30 bovinos hígidos da raça Bonsmara, armazenadas à temperatura
 159 ambiente em diferentes intervalos de tempo (zero, 24 e 48 horas).

Elemento	Zero	24 horas	Diferença ³ %	48 horas	Diferença ⁴ %
	Média ± DP	Média ± DP		Média ± DP	
Leucócitos totais²/μL	15036 ± 5272 a	14423 ± 4957 a	-4,08	14466 ± 5114 a	-3,79
Bastonetes²/ μL	226 ± 245 a	31 ± 68 b	-86,28	45 ± 102 b	-80,09
Neut.segmentados²/μL	2624 ± 1291 a	3915 ± 3291 a	+ 49,20	3367 ± 2266 a	+ 28,32
Linfócitos²/ μL	10909 ± 4861 a	8959 ± 5263 a	-17,88	9257 ± 4350 a	-15,14
Eosinófilos²/ μL	743 ± 728 b	1375 ± 1356 a	+ 85,06	1641 ± 1503 a	+ 120,86
Monócitos²/ μL	524 ± 367 a	103 ± 147 b	-80,34	150 ± 242 b	-71,38
Basófilos²/ μL	9 ± 37 a	38 ± 89 a	+ 322,22	4 ± 24 a	-55,56

160 **Legenda:** (a, b) - letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$): 2. Variáveis com distribuição não gaussiana foram avaliadas por
 161 método não paramétrico; 3. Diferença do momento zero para o momento 24 horas; 4. Diferença do momento zero para momento 48 horas

162

163 A tabela 2 mostra que as médias dos leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos e basófilos não tiveram diferenças estatísticas entre os
 164 momentos. Com relação aos bastonetes e os monócitos, houve diferença estatística ($p < 0,05$) no momento

165 24 e 48 horas com relação ao momento zero, ocorrendo uma diminuição destes com relação ao momento zero, e entre o momento 24 e 48 horas
 166 os valores foram estatisticamente semelhantes ($p>0,05$). Os eosinófilos apresentaram valor estatisticamente menor no momento zero em relação
 167 aos demais momentos ($p<0,05$), sendo observado aumento de 85,06% nos valores desse tipo celular com 24 horas de armazenamento a
 168 temperatura ambiente e 120,86% com 48 horas de armazenamento em relação ao momento zero.

169

170 **Tabela 3** – Médias e desvios padrão dos elementos do eritrograma e plaquetograma em amostras de sangue de 30 bovinos hípidos da raça Bonsmara,
 171 armazenadas sob refrigeração (2° a 8°C) em diferentes intervalos de tempo (zero, 24 e 48 horas)

Elemento	Zero	24 horas	Diferença ³ %	48 horas	Diferença ⁴ %
	Média ± DP	Média ± DP		Média ± DP	
Hemácias ¹ x 10 ⁶ /μL	8,16 ± 1,43 a	8,12 ± 1,49 a	-0,49	8,01 ± 1,44 a	-1,84
Hemoglobina ¹ g/dL	11,73 ± 1,69 a	11,64 ± 1,62 a	-0,77	11,53 ± 1,67 a	-1,71
Hematócrito ¹ %	35,88 ± 5,32 a	35,97 ± 5,43 a	+ 0,25	35,85 ± 5,40 a	-0,08
VCM ¹ μm ³	44,27 ± 3,09 a	44,61 ± 3,24 a	+ 0,76	45,03 ± 3,34 a	+ 1,72
CHCM ² %	32,76 ± 2,23 a	32,45 ± 2,03 a	-0,95	32,21 ± 1,87 a	-1,68
RDW ² %	22,21 ± 4,23 a	22,34 ± 4,54 a	+ 0,58	22,25 ± 4,56 a	+ 0,18
Plaquetas ¹ x 10 ³ / μL	372,04 ± 180,97 a	314,17 ± 205,17 a	-15,56	286,78 ± 195,63 a	-22,92
VPM ² fL	6,49 ± 0,59 b	7,03 ± 0,63 a, b	+ 8,32	7,16 ± 0,70 a	+10,32
	n = 20	n = 13		n = 9	

172 **Legenda:** VCM: Volume corpuscular médio, CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média, RDW: Red cell distribution width, VPM: Volume
 173 plaquetário médio. (a, b) - letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p<0,05$): 1. Variáveis com distribuição gaussiana foram avaliadas por
 174 método paramétrico; 2. Variáveis com distribuição não gaussiana foram avaliadas por método não paramétrico; 3. Diferença do momento zero para o momento
 175 24; 4. Diferença do momento zero para momento 48 horas

176

177 De acordo com o demonstrado na tabela 3, dos índices hematimétricos avaliados, como número de hemácias, teor de hemoglobina, hematócrito,
 178 volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), red cell distribution width (RDW) e plaquetas não
 179 apresentou diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$) quando estocados à temperatura de refrigeração por 24 e 48 horas. Em relação ao
 180 volume plaquetário médio (VPM) a média com 48 horas de estocagem foi estatisticamente superior ao momento zero, com o aumento de 10,
 181 32%. As médias do momento zero e de 24 horas, de 24 e 48 horas são semelhantes entre si.

182

183 **Tabela 4-** Médias e desvios padrão dos elementos do leucograma em amostras de sangue de 30 bovinos hígdos da raça Bonsmara, armazenadas sob
 184 refrigeração (2° a 8°C) em diferentes intervalos de tempo (zero, 24 e 48 horas)

Elemento	Zero	24 horas	Diferença ³ %	48 horas	Diferença ⁴ %
	Média ± DP	Média ± DP		Média ± DP	
Leucócitos totais¹ /μL	10182 ± 22212 a	10286 ± 2168 a	+ 1,02	10108 ± 2300 a	-0,73
Bastonetes² / μL	146 ± 174 a	6 ± 31 b	-95,90	11 ± 30 b	-92,47
Neut.segmentados² / μL	3748 ± 5301 a	2996 ± 1358 a	-0,07	2946 ± 1429 a	-21,40
Linfócitos² / μL	8660 ± 11602 a	6301 2690 a	-27,24	6044 ± 2504 a	-30,21
Eosinófilos² / μL	739 ± 1505 a	963 ± 1156 a	+30,31	1092 ± 1416 a	+ 47,77
Monócitos² / μL	823 ± 995 a	18 ± 40 b	-97,81	13 ± 37 b	-98,42
Basófilos² / μL	16 ± 43 a	00 ± 00 a	-100,00	00 ± 00 a	-100,00

185 **Legenda:** (a, b) - letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p<0,05$): 1.Variáveis com distribuição gaussiana foram avaliadas por método
 186 paramétrico; 2.Variáveis com distribuição não gaussiana foram avaliadas por método não paramétrico; 3. Diferença do momento 24 para o momento zero; 4.
 187 Diferença do momento 48 para momento zero

188 Ao confrontar os valores obtidos para os elementos relacionados com o leucograma
189 constatou que as médias dos leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos,
190 eosinófilos e basófilos não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) quando
191 estocados à temperatura de refrigeração por 24 e 48 horas. Observou-se que os valores
192 dos bastonetes e monócitos no momento zero foram superiores observados com 24 e 48
193 horas de estocagem à temperatura de refrigeração. Observa-se uma redução do número
194 de bastonetes do momento zero para 24 horas de 95,90% e do momento zero para 48
195 horas de 92,47%. Os monócitos reduziram 97,81% do momento zero para 24 horas e de
196 98,42% para 48 horas (tabela 4).

197 Embora os basófilos tenha apresentado redução de 100% do momento zero para 24 e
198 48 horas de refrigeração esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$).

199

200

Discussão

201

202 Os valores dos elementos do eritrograma das amostras de sangue mantidas em
203 temperatura ambiente e refrigerada (tabela 1 e 3) não apresentaram diferenças
204 estatísticas e corroboram com Vogelaar et al. ⁽⁹⁾ e Bleul et al. ⁽¹⁰⁾ ao afirmarem que o
205 tempo e a temperatura de armazenamento não provocaram diferenças estatística
206 significativas, o que frisa mais uma vez que a forma de armazenagem e temperatura não
207 vão interferir no resultado obtidos do experimento.

208 Foi possível correlacionar os resultados acima com os achados de Wood et al. ⁽¹¹⁾, que
209 analisando a estabilidade das células sanguíneas estocadas sob refrigeração e em
210 temperatura ambiente encontraram aumento significativo ($p<0,05$) apenas para o
211 volume corpuscular médio (VCM), principalmente em amostras mantidas em
212 temperatura ambiente.

213 O maior valor do volume plaquetario médio (VPM) nas amostras mantidas sobre
214 refrigeração por 48 horas em relação ao momento zero (aumento de 10,32%) pode ser
215 justificado segundo Coelho ⁽¹²⁾ à ação do EDTA K_3 sobre as plaquetas e ao aumento da
216 agregação plaquetária nas amostras independente da temperatura de estocagem, embora
217 tenha sido observado somente na amostra refrigerada.

218 Em estudo anterior de Gulati et al. ⁽¹³⁾, constataram que armazenamento por mais de 24
219 horas à temperatura ambiente, aumenta o valor do hematócrito com a hemoglobina
220 mantendo valor relativamente estável, fazendo com que ocorra um declínio
221 estatisticamente significativo no valor da concentração de hemoglobina corpuscular

222 média (CHCM), o que não foi possível notar no presente estudo tanto nas amostras
223 armazenadas à temperatura ambiente como nas refrigeradas (tabela 1 e 3). Nas amostras
224 mantidas à temperatura ambiente foi observada uma redução de apenas 2,15% do
225 momento zero para 24 horas e de 4,18% do momento zero para 48 horas de
226 armazenamento (tabela 1). Nas amostras mantidas sobre refrigeração este elemento
227 apresentou-se uma redução de 0,95% do momento zero para 24 horas e de 1,68% do
228 momento zero para 48 horas de refrigeração (tabela 3).

229 O encontro de valores semelhantes para leucócitos totais nos 3 momentos avaliados
230 tanto nas amostras mantidas na temperatura ambiente como nas refrigeradas condizem
231 com os achados de Médaille, Marchal e Braun et al. ⁽¹⁴⁾, que encontraram valores
232 semelhantes para leucócitos em amostras de sangue canino com EDTA mantidos a
233 temperatura ambiente por 24 e 48 horas.

234 As células sanguíneas sofrem vários danos quando as amostras sanguíneas são mantidas
235 armazenadas na temperatura ambiente ⁽¹⁵⁾. O aumento significativo ($p < 0,05$) dos
236 eosinófilos nas amostras mantidas por temperatura ambiente por 24 e 48 horas (tabela 2)
237 é atribuído à redução de outros leucócitos, como neutrófilos em bastonetes e monócitos
238 devido leucólise e degeneração celular. Em decorrência disso por ser os eosinófilos uma
239 célula de mais fácil identificação na contagem diferencial na extensão sanguínea corada
240 pela presença de lisossomos bem evidentes e característicos, mesmo estando degenerada
241 são facilmente identificadas e contadas causando um aumento relativo.

242 Em estudo anterior Ihedioha e Onwubuche et al. ⁽¹⁶⁾ constataram que as alterações
243 hematológicas artificiais em sangue humano e de outras espécies são menores quando
244 estocados em temperaturas de refrigeração, o que foi também observado no presente
245 estudo nas amostras refrigeradas.

246 O armazenamento prolongado da amostra pode ocasionar algumas alterações na
247 morfologia celular como: poiquilocitose, acantocitose, equinocitose, anisocitose,
248 vacuolização citoplasmática em algumas células (neutrófilos e monócitos), basofilia
249 citoplasmática em neutrófilos, fragilidade celular e agregação plaquetária ⁽¹⁷⁾, levando a
250 uma diminuição das plaquetas como um todo.

251 As alterações na citologia ou contagem diferencial dos leucócitos provavelmente foram
252 desencadeadas pela perda de característica individuais das células, degeneração celular,
253 que ocorrem à medida que a amostra permanece armazenada, conforme afirma Gulati et
254 al ⁽¹³⁾, o que foi possível observar no presente estudo, principalmente as alterações
255 leucocitárias como nos neutrófilos em bastonetes, eosinófilos nas amostras mantidas em

256 temperatura ambiente e monócitos em ambos os tempos de armazenamento. O que pode
 257 ser atenuado com a confecção das extensões sanguíneas no momento da coleta, evitando
 258 assim as degenerações celulares.

259

260 **Conclusões**

261

262 Conclui-se baseado nas observações do presente estudo que o tempo e a temperatura de
 263 armazenamento até 48 horas interferem no número de neutrófilos em bastonetes,
 264 eosinófilos e monócitos e no volume plaquetario médio.

265

266 **Referências**

267

268 1. Leidentz LA, Lazarotto D. Influência do tempo de armazenamento da amostra sobre os
 269 parâmetros hematológicos de cães. Instituto Federal Catarinense 2017; 1(1): 1-5p Disponível
 270 em: <http://eventos.ifc.edu.br/micti/wp-content/uploads/sites/5/2014/08/INFLU%C3%8ANCIA-DO-TEMPO-DE-ARMAZENAMENTO-DA-AMOSTRA-SOBRE-OS-PAR%C3%82METROS-HEMATOL%C3%93GICOS-DE-C%C3%83ES.pdf>

273 2. Felipe CFR, Saggin GD, Fonseca PB, Rossetto FL, Kataoka A. Efeitos quantitativos da
 274 estocagem sobre os principais parâmetros hematológicos de cães. In: Congresso Brasileiro da
 275 ANCLIVEPA; 2016 Goiania – GO, p.0838. Disponível em:
 276 http://www.infoteca.inf.br/anclivepa/smarty/templates/arquivos_template/upload_arquivos/docs/ANC16332.pdf

278 3. Braz PH, Garcia ER. Frequência de erros pré-analíticos ocorridos na Medicina Veterinária.
 279 Pubvet. 2018; 12 (2): 1-4p. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigo/4406/frequecircncia-de-erros-preacute-analiacuteticos-ocorridos-na-medicina-veterinaacuteria>

281 4. Kirmizigul A, Gokce E, Sozmen M. Effects of storage duration and temperature on the values
 282 of haematological parameters in bovine and ovine blood sample. Journal of the Hellenic
 283 Veterinary Medical Society. 2018; 68 (2): 145-154p. Available from:
 284 <https://ejournals.epublishing.ekt.gr/index.php/jhvms/article/view/15598/0/AbntCitationPlugin>

285 5. Hadzimusic N, Katica M, Muharemovic Z, Musanovic J. Effect of temperature storage on
 286 hematological parameters of avian turkey blood. International Journal of Collaborative Research
 287 on Internal Medicine and Public Health. 2010; 2 (5): 158-166 Available from:
 288 <http://internalmedicine.imedpub.com/effect-of-temperature-storage-on-hematological-parameters-ofavian-turkey-blood.php?aid=6048>

290 6. Tendulkar A, Jain P, Gujral S, Tambe M, Kenjale R, Ganesh B. Stability of selected
 291 hematological parameters in stored blood sample. Journal of Cell Science and Therap. 2015; 6
 292 (5): 1-5 p. Available from: <https://www.omicsonline.org/open-access/stability-of-selected-hematological-parameters-in-stored-blood-samples-2157-7013-1000220.php?aid=61232>

294 7. Ferreira Neto JM, Viana ES, Magalhães LM. Patologia Clínica Veterinária. 1st ed. Belo
 295 Horizonte: Rabelo e Brasil. 1982. 279p.

296 8. Gadelha ICN, Meireles MVN, Bessa EN, Melo HM, Amorim EF, Costa LLM. Perfil
 297 hematológico de cães em diferentes concentrações de anticoagulante e bioquímica sérica em
 298 tempos diferentes de armazenamento. Revista brasileira Ciência Veterinária. 2017; 24 (4): 173-
 299 178p. Disponível em: periodicos.uff.br/rbcv/article/download/7747/6029

- 300 9. Vogellar SA, Posthuma D, Boomsma D, Klufft C. Blood sample stability at room temperature
301 for counting red and white blood cells and platelets. *Vascular Pharmacology*. 2002; 1 (1): 123-
302 125p. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12616978>
- 303 10. Bleul U, Sobiraj A, Bostedt H. Effects of duration of storage and storage temperature on cell
304 counts of bovine blood sample as determined by an automated haematology analyser.
305 *Comparative Clinical Pathology*. 2002; 11 (1): 211-216p. Available from:
306 <https://link.springer.com/article/10.1007/s005800200021>
- 307 11. Wood BL, Andrews J, Miller S, Sabath D. Refrigerated storage improves the stability of the
308 complete blood cell count and automated differential. *American Journal Clinical Pathology*.
309 1999; 1 (1): 687-695p. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10549256>
- 310 12. Coelho PS. Influência do tempo, temperatura e recipiente de estocagem nas características
311 do hemograma de cães adultos hípidos. [Dissertação]. [Jaboticabal]: Universidade Estadual de
312 São Paulo 2006. 1-88p. Disponível em: [http://javalı.fcav.unesp.br/sgcd/Home/download/
313 pgtrabs/pan/m/2580.pdf](http://javalı.fcav.unesp.br/sgcd/Home/download/pgtrabs/pan/m/2580.pdf)
- 314 13. Gulati GL, Hyland LJ, Kocher W, Schwarting R et al. Changes in automated complete
315 blood cell count and differential leukocyte count results induced by storage of blood at room
316 temperature. *Arch Pathol Lab Med*. 2002; 126 (1): 336-342p. Available from:
317 [https://www.archivesofpathology.org/doi/10.1043/0003-
318 9985\(2002\)126%3C0336:CIACBC
%3E2.0.CO;2?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed](https://www.archivesofpathology.org/doi/10.1043/0003-9985(2002)126%3C0336:CIACBC%3E2.0.CO;2?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed)
- 319 14. Médaille C, Briend-Marchal A, Braun JP. Stability of selected hematology variables in
320 canine blood kept at room temperature in EDTA for 24 and 48 hours. *Veterinary Clinical
321 Pathology*. 2006; 35 (1): 18-23p. available from: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/
322 full/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00083.x?sid=nlm%3Apubmed](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00083.x?sid=nlm%3Apubmed)
- 323 15. Almeida MS, Melo CX, Almeida MMC. Causas de alterações morfológicas nos glóbulos
324 vermelhos que comprometem o resultado do laudo clínico. *Facene/Famene*. 2012; 10 (1): 83-
325 90p. Disponível em: [https://docplayer.com.br/29269075-Artigos-de-revisao-causas-de-
326 alteracoes-morfologicas-nos-globulos-vermelhos-que-comprometem-o-resultado-do-laudo-
327 clinico.html](https://docplayer.com.br/29269075-Artigos-de-revisao-causas-de-alteracoes-morfologicas-nos-globulos-vermelhos-que-comprometem-o-resultado-do-laudo-clinico.html)
- 328 16. Ilhedioha JI, Onwubuche RC. Artifactual changes in PCV, haemoglobin concentration, and
329 cell counts in bovine, caprine, and porcine blood stored at room and refrigerator temperature.
330 *Veterinary Clinical Pathology*. 2007; 36 (1): 60-63p. Available from:
331 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1939-165X.2007.tb00183.x>
- 332 17. Oliveira E, Trentin TC, Vila LG, Silva SL, Arhnold E, Martins DB. Giant Anteater
333 (*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758) of the brazilian cerrado: hematology and storage
334 effect. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2017; 37 (7): 773-780p. Disponível em:
335 http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2017000700773.