

Artigos de Revisão

CAUSAS DE ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NOS GLÓBULOS VERMELHOS QUE COMPROMETEM O RESULTADO DO LAUDO CLÍNICO

Mabel Soares de Almeida¹
Catarinne Xavier de Melo²
Maria Margareth Câmara de Almeida³

RESUMO

A série eritrocitária, parte constituinte do tecido sanguíneo, é uma ferramenta bastante eficiente na determinação de patologias. Mediante sua importância, as hemácias necessitam ser observadas mais atentamente, principalmente em seu sentido patológico, uma vez que desempenham papel fundamental na manutenção da vida. O objetivo principal desta obra é evidenciar as reais causas de alterações morfológicas eritrocitárias, que surgem nos laudos clínicos, e associá-las a patologias ou a defeitos técnicos, de manutenção ou agressões cotidianas. O presente trabalho abrange os componentes do tecido sanguíneo, as causas e efeitos das transformações eritrocitárias, a diversidade de patologias que desencadeiam no ser humano e relata e define as variadas formas (acantocítica, ovalocítica, eliptocítica, esferocítica, drepanocítica, dacriocítica, equinocítica, queratocítica, estomatocítica, esquistocítica, nizocítica, discocítica, anulocítica, codocítica) que as hemácias adquirem. Com esta revisão literária, foi possível perceber que o diagnóstico clínico pode ser facilmente camuflado, uma vez que a morfologia se altera por inúmeros fatores. Porém, a necessidade de se descobrir a causa dessa alteração é muito importante no diagnóstico precoce de uma suposta patologia, sendo essa reafirmada por exames específicos e precisos de caráter confirmatório. Neste sentido, avaliar os eritrócitos significa estar atento a uma possível anormalidade observada tardiamente.

Palavras-chave: Patologias. Eritrócitos. Alterações morfológicas.

INTRODUÇÃO

O homem, assim como a maior parte dos seres vivos terrestres, depende do único tecido líquido existente para sua sobrevivência: o sangue. Esse se forma na medula óssea, principalmente em ossos chatos e extremidades de ossos longos, e é constituído, essencialmente, pela série vermelha (eritrócito ou hemácias), série branca (leucócitos) e pelas plaquetas. Em menores quantidades se encontram substâncias: glicose, ácido úrico, uréia, creatinina, triglicerídeos, colesterol e algumas proteínas. Os glóbulos vermelhos (eritrócitos) são unidades morfológicas presentes no sangue em quantidade por volta de $4,5$ a $6,5 \times 10^6 / \text{mm}^3$, em condições normais, e são constituídos basicamente por globina e hemoglobina^{1,2}.

Eritrócitos normais são caracterizados como discos circulares homogêneos, bicôncavos

¹ Bacharel em Biomedicina nas Faculdades Integradas de Patos - FIP; Bacharelanda em Administração na Universidade Estadual da Paraíba e Pós-graduanda em Hematologia Clínica na FIP. End.: Rua Panatis, 04, Belo Horizonte - Patos-PB. CEP: 58704-000. Tel.: (83) 9970-5330/ (83) 9622-3909 - E-mail: mabelsoares_almeida@hotmail.com.

² Bacharel em Biomedicina nas Faculdades Integradas de Patos - FIP; Pós-graduada em Citologia Oncótica nas FIP. End.: Rua Pedro Cruz Guedes, 1547, Jardim Guanabara - Patos-PB. CEP: 58701-070. Tel.: (83) 3421-5092/ (83) 8854-2383 - E-mail: catarinnexavier@hotmail.com.

³ Graduação em Farmácia, Mestre em Bioquímica, Professora titular do curso de Biomedicina das Faculdades Integradas de Patos - FIP.

e anucleados, que se formam a partir de uma célula precursora: proeritroblasto. Sucessivo a essa célula, ocorre um processo maturativo até se tornar eritrócito, passando por eritroblasto basófilo, seguido do eritroblasto policromático, eritroblasto ortocromático e reticulócito, ocorrendo, enfim, a formação da célula madura. Medem cerca de 6 a 8 μm , sobrevivem aproximadamente 100 a 120 dias, coloração vermelha - em virtude da molécula carreadora de oxigênio: hemoglobina; e, dependendo da ocasião, encontram-se dismórficos, variados em conteúdo hemoglobínico, em propriedades de coloração e estrutura^{3,4,5}.

Hemácias são as células mais numerosas no sangue. Seu conteúdo celular reduzido, em relação à membrana, confere-lhe um melhor desempenho no organismo, e o aumento da espessura da membrana facilita sua passagem pelos capilares, sem sofrer distensão ou rotura. A forma de dupla concavidade favorece a existência de uma grande superfície de difusão, em relação ao seu tamanho e volume, sendo ideal para a absorção e liberação rápida de gases. A ausência de núcleo também favorece o transporte de oxigênio, porque a célula pode conter maior quantidade de hemoglobina, contribuindo para sua maior eficiência por unidade de volume. Assim, quanto menor a hemácia, melhor será o transporte de oxigênio.⁶

Apesar da eficiência dos métodos automatizados, a hematoscopia é um recurso propedêutico de imenso valor na interpretação clínica do hemograma. A mesma fornece dados sobre anormalidades morfológicas importantes no diagnóstico diferencial das anemias, principalmente no que tange a "classificação das causas e dos tipos dessas patologias" entre outras alterações que facilitam o laudo final. Porém, é importante frisar que nem todas as alterações de forma têm a mesma importância clínica. Por exemplo, esquizócitos e esferócitos são importantes, mesmo em pequenas quantidades, enquanto que hemácias em alvo e ovaladas só têm importância em maior frequência^{7,8}.

O quadro morfológico da série vermelha é de extrema relevância. O mesmo serve de grande suporte no esclarecimento do estado hematológico do indivíduo. As variações morfológicas, quando não associadas a artefatos, provocadas principalmente pela extensão laminar incorreta, ou quando não se observa a relação sangue-anticoagulante,

devem ser levadas em consideração de forma que possuem uma inegável importância para a elucidação do diagnóstico hematológico⁹.

O trabalho teve como principal objetivo evidenciar as causas pelas quais a morfologia eritrocitária é alterada, uma vez que essas alterações são multifatoriais e dificultam o resultado do laudo clínico. É importante evidenciar as reais causas das alterações morfológicas, pois, a partir desse dado, é possível associar a causa a algum quadro patológico ou não.

Alterações na forma eritrocitária e suas causas

As membranas das hemácias são constituídas por uma bicamada lipídica semi-permeável, sustentada por um citoesqueleto proteico. Tais membranas são livremente permeáveis a ânions, como o Cl^- e o HCO_3^- , e impermeáveis a cátions, como o Na^+ e o K^+ . Sua constituição estrutural concerne em 52% de proteínas, 40% de lipídios, 8% de carboidratos¹⁰.

Por possuir uma dupla camada de lipídeos, a membrana se torna capaz de manter separado o fluído intracelular do líquido extracelular, além de selecionar nutrientes, gases e íons, bem como permitir a excepcional deformidade do eritrócito, quando sofrido algum tipo de agressão. A porção lipídica da membrana se constitui, principalmente, de colesterol livre e fosfolipídios, esses que se distribuem nas camadas: interna e externa, da dupla membrana.^{11,12}

O colesterol desempenha uma função importante em muitos processos biológicos como permeabilidade membranar, organização lateral de lipídeos e passagens de substâncias através da membrana¹³, de forma que o número de esteróis é inversamente proporcional à fluidez da membrana e diretamente à rigidez da mesma¹⁴. A composição membranar confere uma característica de bipolarização na presença da água. Dessa forma, em direção ao citoplasma celular (meio aquoso interno) e o líquido plasmático do sangue (meio aquoso externo), forma-se a camada de fosfolipídios hidrofílicos, enquanto que, no interior da dupla camada (com ausência de água), estão os ácidos graxos hidrofóbicos.^{15,16}

Às alterações na forma das hemácias, dá-se o nome poiquilocitose ou pecilocitose¹⁷. Esses desequilíbrios possuem causas

multifatoriais e constantemente outras novas vão surgindo. A destruição globular ocorre em duas situações: existência de alterações de superfície reconhecidas como anômalas, ou a presença de características físicas que limitem a deformidade dos eritrócitos, impedindo-os de atravessar a barreira constituída pela microcirculação esplênica.

A desestruturação eritrocitária é decorrente de dois tipos de situações: patológicas e não-patológicas. Estas podem ser por: trauma mecânico, colisão em zonas de fluxo turbulento com superfícies mal-endotelizadas, ao ultrapassar depósitos intravasculares de fibrina ou agregados plaquetários, agressão térmica nas queimaduras, química pelo uso de fármacos oxidativos, entre outras. Já aquelas podem ser por: herança genética, produção de autoanticorpos, hepatopatias, fibrose na medula óssea, agressão aos constituintes membranares, alteração no metabolismo dos fosfolipídios e/ou proteínas integrantes da membrana, crioaglutininas etc.¹⁸

O trauma e a agressão fragmentam os eritrócitos gerando formas variadas e, algumas vezes, sugestivas de patologias. A primeira ocasiona invaginação de membrana com sucessivo vacúolo cujo rompimento deixa o eritrócito estilizado com duas projeções queratiformes simétricas. A segunda, quando por fármacos oxidativos, os corpos de Heinz são retirados dos eritrócitos, ocasionando irregularidade e aspecto de mordidas. Quando por agressão térmica, os eritrócitos formam protusões citoplasmáticas que se desprendem e circulam como esférulas¹⁸.

Paralelos a todos esses fatores que provocam alterações morfológicas nas hemácias, ainda se encontram: herança genética, altitude, temperatura, envelhecimento, defeito na confecção do esfregaço, anticoagulantes mal conservados, invalidados ou mal utilizados, hemólise, tubo mal lavado, microorganismos, dieta, exercícios físicos e interação com praguicidas.^{19,20,21,22}

Alterações morfológicas eritrocitárias: causas patológicas e não-patológicas

Dentre os maiores causadores de alterações na morfologia eritrocítica estão os anticoagulantes. Estes são substâncias químicas que previnem a coagulação sanguínea e apraza a deterioração celular. Descobertos desde 1917, os anticoagulantes

foram e são de extrema importância para o armazenamento e estocagem das células sanguíneas, facilitando o trabalho nos bancos de sangue e aprimorando o metabolismo eritrocitário nos testes hematológicos²³.

Quando utilizados inadequadamente, os anticoagulantes provocam uma série de inquietações que vão desde dificuldade na visualização da amostra ou lâmina a alterações na morfologia das células sanguíneas. A quantidade, validade e estado físico desses concentrados são de extrema importância, pois valores elevados ou reduzidos, em relação à quantidade sanguínea, ocasionam lesões celulares, alterações nos testes e, principalmente, danos à morfologia eritrocitária²⁴.

Os anticoagulantes mais utilizados para realização dos parâmetros hematológicos são: Ácido etileno-diamino-tetra-acético (EDTA) para determinações bioquímicas e hematológicas; Heparina para provas bioquímicas; Oxalato de amônia e Citrato de sódio para provas de coagulação. Nas amostras *in vitro*, cada um possui seu princípio ativo, assim como sua função e significância laboratorial^{25,26,27}.

Após 24 horas envolvidos com anticoagulantes, principalmente o EDTA, os eritrócitos se sensibilizam a lise. Este líquido, em elevadas concentrações, dilui o sangue e desencadeia interferências nos exames em andamento. Isto implica na necessidade de as amostras serem rapidamente processadas, após coleta, mesmo que esteja refrigerada. A lise celular é a principal modificação em decorrência do mau uso dessas substâncias, havendo também, relatos de coagulação, aumento do volume eritrocitário, redução do número leucocitário, alterações morfológicas etc.^{24,28}

Durante a conservação sanguínea, as células sofrem um conjunto de danos, conhecidos como lesões de conservação, proporcionados pelos anticoagulantes. Os danos celulares provocam uma perda na funcionalidade das mesmas e comprometem sua viabilidade, pois, com o passar das horas, os conservantes acarretam injúrias e diminuem a taxa de sobrevivência das células²⁹. O aumento de anticoagulantes acarreta, também, uma inflação de líquido no interior das hemácias, promovendo fragilidade osmótica, aumento na medição do volume corpuscular médio (VCM) e relevante decréscimo na velocidade

de hemossedimentação das hemácias (VSH). Dessa forma, muitos resultados se alteram no processamento analítico e subsequente no pós-analítico, inviabilizando o resultado do exame.^{25,28}

As alterações causadas pela heparina, anticoagulante que inibe a agregação plaquetária, acarretam uma considerável diminuição na sua série. Por isso, esse não é usado nas análises hematológicas, principalmente nos hemogramas. Em relação aos eritrócitos, a heparina é utilizada nos testes de fragilidade osmótica, uma vez que não altera a morfologia nem o tamanho celular. Porém, quando esse é utilizado em concentrações inadequadas, as informações se tornam invalidadas³⁰.

O EDTA previne a coagulação sendo, portanto, considerado o melhor conservante. Porém, se adicionado com uma quantidade muito pequena de sangue, suas concentrações elevadas danificam e, até mesmo, lisam as hemácias; caso contrário, o sangue possivelmente coagulará. Em casos elevados, a quantidade de sangue no duto causa desidratação eritrocitária. O fluoreto de sódio acarreta a deterioração das hemácias em imediato, além de alterar o metabolismo e provocar hemólise, prejudicando o hemograma. O citrato de sódio é o anticoagulante que não preserva os eritrócitos, mas é bastante utilizado para testes de coagulogramas. O oxalato de potássio é utilizado em procedimentos hematológicos conjugado, na maioria dos casos, com o oxalato de amônio.^{27,31,32}

As formas adquiridas pelas hemácias que sofrem algum tipo de agressão são variadas e decorrentes de distintas situações, sejam patológicas ou não. Dentre as alterações mais encontradas e patologias associadas estão:

- Os *esferócitos* são células pequenas e esféricas, com grande quantidade de hemoglobina, por isso, bem coradas, aparentemente se mostrando maiores que o eritrócito. A presença de esferócitos está associada às anemias hemolíticas esferocíticas hereditárias e adquiridas, doença hemolítica do recém-nascido, transfusões sanguíneas, esferocitose e casos de hemólise. Os *ovalócitos* apresentam-se em formato ovalado ou elíptico. Em altas concentrações, são indicativos de anormalidade herdada decorrente de defeitos genéticos, de anemias megaloblásticas,

mielofibrose idiopática e anemia ovalocítica³³.

- Já os *eliptócitos* são células alongadas e delgadas, com elevada concentração de hemoglobina e se encontram nas anemias hemolíticas hereditárias eliptocíticas, leucemias e talassemias. Os *acantócitos* ou *equinócitos* são estruturas geralmente arredondadas, crenadas, com proeminências pontiagudas semelhantes a espinhos. São encontradas, em casos de abetalipoproteinemia hereditária ou adquirida, algumas afecções hepáticas, uremias, alcoolismo crônico com comprometimento do fígado, pós-esplenectomia, síndromes de má absorção, hipotireoidismo e alterações nos valores de colesterol e triglicérides³⁴.

- Os *esquisócitos* são restos de fragmentos eritrocitários com formas acidentadas, compondo sinal de hemólise. Essas formas se apresentam em anemias hemolíticas, queimaduras graves, hemólise exacerbada intravascular, coagulopatia intravascular disseminada ou neoplasias vasculares, e ainda em hemangiossarcoma. Os *drepanócitos* são células maduras em formato de “foice” ou “meia lua”. Geralmente, são encontrados em casos de hemácias submetidas à hipóxia, nas anemias falciformes ou drepanocítica e hemoglobinopatia-s³⁵.

- A morfologia *dacriocita* se assemelha a uma lágrima ou pêra. Encontra-se com mais frequência em fibrose medular ou diseritropoese severa, mielofibrose com metaplasia mielóide, anemia mielotísica, pernicioso e megaloblástica, talassemia beta e maior, oxidações da hemoglobina e tumor metastático na medula óssea. Os *macrócitos* são células maiores que as hemácias normais e geralmente se apresentam quando há deficiência de vitamina B12 e ácido fólico, podendo estar presente também na anemia pernicioso. Os *megalócitos* são células exageradamente desenvolvidas, bem maiores que os macrócitos, que possuem forma ovalada e ocorrem nas anemias megaloblásticas¹⁷.

- A morfologia *codocítica* ou *hemácia em alvo* é caracterizada por possuir um espaço corado aumentado no meio da área de palidez central. Esse tipo de formato é originado em consequência de um excesso de membrana em relação ao volume citoplasmático. É encontrada em anemias hipocrômicas, hemorragias glomerulares e, especialmente, nas talassemias e hemoglobinopatias C e S³⁶. Os *estomatócitos* são reconhecidos por

possuírem um estoma ou fenda central. Ocorre com frequência em indivíduos hepatopatas, principalmente, por excesso de álcool.³⁷

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mediante a importância da homeostase sanguínea para o organismo e para o bom funcionamento do mesmo, o estudo das alterações morfológicas foi de extrema relevância tanto para se descobrir as causas que levaram a essas transformações, como o que podem desencadear no tecido sanguíneo. A alteração da estrutura normal da hemácia é ocasionada por inúmeros fatores que variam em natureza, concentração e agressividade. É através desses fatores que hemácias se alteram, patologias se desenvolvem e diagnósticos clínicos são camuflados.

As formas que os eritrócitos adquirem reflexos de desequilíbrios hematológicos e/ou agressões sofridas, deixando-os em formatos

anormais. Essa anormalidade é multifatorial, comum e, primariamente, inespecífica. Porém, com a necessidade de se descobrir a forma adquirida, para relacioná-la ou não a certa patologia, a alteração se torna muito importante no diagnóstico precoce da doença adquirida. Assim, os fatores que ocasionam as alterações e, em que concentrações essas se encontram, servem como ferramenta preliminar para uma determinada patologia, sendo esta reafirmada por exames específicos de caráter confirmatório.

As hemácias, por desempenharem papel fundamental na manutenção da vida, necessitam ser observadas mais atentamente, principalmente em seu sentido patológico, uma vez que, morfológicamente alteradas, dependendo também do grau de mudança, são prognósticos de desequilíbrios maturativos e funcionais de certos órgãos. Neste sentido, avaliar os eritrócitos significa está atento a uma possível anormalidade observada tardiamente.

CAUSES OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN RED BLOOD CELLS THAT THE RESULT OF COMPROMISE CLINICAL REPORT

ABSTRACT

The erythrocyte series, a constituent of blood tissue, is a very effective tool in determining pathologies. Through its importance, the red cells need to be observed more closely, especially in its pathological sense, since a vital role insustaining life. The main objective of this work is to highlight the real causes of red cell anomalies that arise in clinical reports, and link them to disease or technical defects, maintenance and daily aggressions. This paper covers the components of the blood tissue, the causes and effects of erythrocyte changes, the diversity of conditions that trigger in humans and defines the various reports and forms (acantocítica, ovalocítica, eliptocítica, spherocytic, drepanocítica, dacriocítica, equinocítica, queratocítica, estomatocítica, esquisocítica, nizocítica, discocítica, anulocítica, codocítica) acquire the red cells. With this literature review, it was revealed that clinical diagnosis can be easily concealed, since the morphology is altered by numerous factors. However, the need to discover the cause of this change is very important in early diagnosis of a suspected pathology, and this is reinforced by specific tests and accurate confirmatory character. In this sense, means to evaluate the erythrocytes are aware of a possible abnormality observed later.

Keywords: Pathology. Erythrocytes. Morphological changes.

REFERÊNCIAS

1. Noce M. Hemograma. [acesso em 18 Out 2010] Disponível em: <http://boasaude.uol.com.br/lib/ShowDoc.cfm?LibDocID=3176&ReturnCatID=1771>.
2. Lucado M. Doenças do sangue. 2008. [acesso em 16 Out 2011] Disponível em: <http://aliviandoabagagem.blogspot.com/2008/03/doenas-do-sangue.html>.
3. Martinez M. Hemácias. 2010. [acesso em 18 Out 2010] Disponível em: <http://www.infoescola.com/sangue/hemacias/>.
4. Steinberg MH, Benz Junior EJ. Pathobiology of the human erythrocyte and its hemoglobins. In: Hofman R. et al. Hematology. 3ª ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 356-367.
5. Machado LP, Kohatagawa A, Saito ME, Silveira VF, Yonezawa. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse na Medicina Veterinária. Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages. 2009;8(1):84-94.
6. Souza MHL, Elias DO. Fisiologia do sangue. In: Souza MHL, Elias DO. Fundamentos da Circulação

- Extracorpórea. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editorial Alfa Rio; 2006.
7. Atalla A. Hemograma: análise da série vermelha. 2005. [acesso em 16 Fev 2011] Disponível em: <http://www.aa.med.br/biblioteca-conteudo.php?id=421>.
8. Fleury M. Hematoscopia: como e quando descrever as alterações morfológicas. 2010. [acesso em 17 Fev 2011] Disponível em: <http://files.fisiologica.webnode.com.br/200000031-a0ec2a1e63/Workshop%202010.pdf>.
9. Silva PH, Hashimoto Y, Alves HB. Hematologia laboratorial. Rio de Janeiro: Revinter; 2009.
10. Castro LS, Costa FM. Estudo bioquímico de componentes do sangue. [acesso em 21 Dez 2010] Disponível em: <http://www.uff.br/gcm/GCM/atividades/luciano/inicial.htm>.
11. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Membrane structure. In: Alberts B. Molecular Biology of the cell. 4ª ed. New York: Garland Publishing Inc; 2002.
12. Cascio M. Connexins and their environment: effects of lipids composition on ion channels. *Biochemica et Biophysica Acta*. 2005;1711(2):142-153.
13. Wustner D. Fluorescent sterols as tools in membrane biophysics and cell biology. *Chemistry and Physics of lipids*. 2007;146:1-25.
14. Tsuda K, Nishio I. Membrane fluidity and hypertension. *American Journal of hypertension*. 2003;16(3): 259-261.
15. Estrutura química da membrana. [acesso em 21 Dez 2011] Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/doencaeritro/Eritrocito%20-%20-%2014/estrutqui.htm>.
16. Boon JM, Smith BD. Chemical control of phospholipid distribution across bilayer membranes. *Medicinal Research Reviews*. 2002;22(3):128-251.
17. Lima AO, Soares JB, Greco JB, Galizzi J, Cançado JR. Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica - Técnica e Interpretação. 8ª ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 2001.
18. Failace R. Hemograma: manual de Interpretação. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2003.
19. Batista MTA, Rodrigues HG, Fonseca LC, Bonetti AM, Penha-Silva N, Neres AC, Aversiferreira TA. Estudo dos efeitos do pesticida da classe glicina substituída sobre eritrócitos humanos. *Rev. Eletrônica de Farmácia, Brasília*. 2006;3(2):22-24.
20. Mazzanti L, Franceschi C, Nanetti L, Salvolini E, Staffolani R, Moretti N, et al. Reduced susceptibility to peroxidation of erythrocyte plasma membranes from centenarians. *Experimental Gerontology*. 2002;37:657-63.
21. Penha-Silva N, Firmino CB, Reis FGF, Costa HJC, Souza TMT, Freitas MV, et al. Influence of age on the stability of human erythrocyte membranes. *Mechanisms of ageing and development*. 2007;128:444-9.
22. Srinivasan K, Kempaiah RK. Beneficial influence of dietary curcumin, capsaicin and garlic on erythrocyte integrity in high-fat fed rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2006;17:471-8.
23. Secchi P. Bioquímica dos conservantes sanguíneos. Rio Grande do Sul; 2010.
24. Walencik J, Witeska M. The effects of anticoagulants on hematological indices and blood cell morphology of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology: Part C: toxicology and pharmacology, Elmsford*. 2007;3(146):331-5.
25. Carvalho WF. Técnicas médicas de hematologia e imuno-hematologia. 7ª ed. Belo Horizonte: coopmed Editora; 2002.
26. Gonzáles FD, Silva SC. Introdução à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: UFRGS; 2003.
27. Kerr MG. Exames laboratoriais em medicina veterinária. São Paulo: Roca; 2003.
28. Mafuvadze B, Erlwanger KH. The effect of EDTA, heparin and storage on the erythrocyte osmotic fragility, plasma osmolality and haematocrit of adult ostriches (*Struthiocamelus*). *Veterinarski Archiv, Zagreb*. 2007;77(5):427-34.
29. Saraiva JCP, Otta MI. Preservação do sangue e componentes. In: Bordin JO, Langui Junior DM, Covas DT. Hemoterapia: fundamentos e prática. São Paulo: Atheneu; 2007. p.107-14.
30. Sink CA, Feldman BF. Urinálise e Hematologia Veterinária. São Paulo: Roca; 2006.
31. Simon CF, Fischer CBD, Silveira F, Allgayer MC. Patologia clínica: colheita, conservação e remessa de amostras. *Veterinária em foco*. 2007;4(2):131-41.
32. Navarro CEKG. Manual de urinálise de medicina veterinária. 2ª ed. São Paulo: Varela; 2005.
33. Harvey JW. Atlas of veterinary hematology. Blood and Bone Marrow of Domestic Animals. Philadelphia: WB Saunders; 2001.
34. Hendrix CM. Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários. 4ª ed. São Paulo: Editora Roca; 2002.

35.Figuera RA. Anemia hemolítica em cães e gatos. Acta Scientiae Veterinariae. 2007;35(supl.20):264-6.

36.Sink CA. Urinálise e hematologia laboratorial para clínicos de pequenos animais. 1ª ed. São Paulo: Rocca; 2006.

37.Ângela. Morfologia dos eritrócitos. Laboratório de análises clínicas. Portal de patologia clínica. [acesso em 18 Out 2011] Disponível em: <http://www.professoraangela.kit.net/hematologia4.htm>.

Recebido em: 10.05.2012

Aceito em: 21.08.2012