

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA FACULDADE DE MEDICINA
VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES ANTICOAGULANTES NA FRAGILIDADE
OSMÓTICA ERITROCITÁRIA DE *CHELONOIDIS CARBONARIUS***

ELISA DE CASTRO BACHEGGA

Botucatu,
2025

ELISA DE CASTRO BACHEGGA

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES ANTICOAGULANTES NA FRAGILIDADE
OSMÓTICA ERITROCITÁRIA DE *CHELONOIDIS CARBONARIUS***

Trabalho de Conclusão da Residência em Medicina Veterinária apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP, para obtenção do título de
Residente em Medicina Veterinária.

Área de Laboratório Clínico Veterinário

Preceptor: Prof. Ass. Dr. Paulo Fernandes Marcusso

Botucatu,
2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM. DIVISÃO
TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Bachegga, Elisa de Castro.

Influência de diferentes anticoagulantes na fragilidade
osmótica eritrocitária de *Chelonoidis carbonarius* / Elisa de
Castro Bachegga. - Botucatu, 2024

Trabalho acadêmico (residência - Medicina Veterinária) -
Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Paulo Fernandes Marcusso

Coorientador: Regina Kiomi Takahira

Capes: 50503030

1. Hematologia. 2. Jabutis. 3. Hemólise. 4. Armazenamento
de sangue.

Palavras-chave: Armazenamento; Hemólise; Hematologia;
Jabuti.

ELISA DE CASTRO BACHEGGA

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES ANTICOAGULANTES NA
FRAGILIDADE OSMÓTICA ERITROCITÁRIA DE *CHELONOIDIS CARBONARIUS***

Trabalho de Conclusão de Residência (TCR) apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Botucatu, para obtenção do título de Residente em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Laboratório Clínico Veterinário

Data da defesa: 26/02/2025

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso
UNESP – FMVZ – Campus de Botucatu

Profa. Dra. Regina Kiomi Takahira
UNESP – FMVZ – Campus de Botucatu

Prof. Dr. José Gabriel Gonçalves Lins
UNESP – FMVZ – Campus de Botucatu

DE CASTRO BACHEGGA, ELISA. *Influência de diferentes anticoagulantes na fragilidade osmótica eritrocitária de Chelonoidis carbonarius*. Botucatu, 2024. 19 p. Trabalho de Conclusão de Residência em Medicina Veterinária (área de Concentração: Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

A espécie *Chelonoidis carbonarius*, popularmente chamada de jabuti-piranga, é uma das espécies pertencentes a fauna brasileira utilizada como pet não convencional, sendo cada vez mais comum o atendimento desta espécie na rotina veterinária, que inclui também a realização de exames laboratoriais de triagem, como hemograma. Apesar disso, poucos são os estudos relacionados a hematologia destes animais, bem como aos métodos de acondicionamento de sangue total. O presente projeto visa avaliar qual anticoagulante melhor preserva os eritrócitos dos jabutis-piranga, por meio do teste de fragilidade osmótica eritrocitária. Foram coletadas amostras de sangue total de 10 espécimes de *Chelonoidis carbonarius*, acondicionadas em 6 diferentes anticoagulantes e concentrações, sendo eles: ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 3%; EDTA a 5%; EDTA dipotássico (K2); heparina sódica na concentração de 100UI; heparina sódica na concentração de 200 UI; e citrato de sódio a 3,2%. As amostras foram então processadas para a realização do teste de fragilidade osmótica eritrocitária utilizando-se 7 concentrações de solução estoque de NaCl-PO₄ a 10,5%: 0,65%, 0,55%, 0,45%, 0,35%, 0,25%, 0,15% e 0,05%. Os resultados indicaram que apesar de não haver diferenças estatísticas entre os anticoagulantes testados, há tendência a menor hemólise com o uso de heparina sódica na concentração de 100 UI em comparação aos demais analisados. Existe uma grande dificuldade de estabelecer o melhor anticoagulante em espécies exóticas e poucas informações na literatura, sendo importante a realização de mais estudos relacionados a hematologia dessas espécies, inclusive dos jabutis-piranga.

Palavras chave: Hematologia; Jabuti; Hemólise; Armazenamento.

DE CASTRO BACHEGGA, ELISA. *Influence of different anticoagulants on the erythrocyte osmotic fragility of Chelonoidis carbonarius*. Botucatu, 2024. 19 p. Trabalho de Conclusão de Residência em Medicina Veterinária (área de Concentração: Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

The species *Chelonoidis carbonarius*, popularly called jabuti-piranga, is one of the species of Brazilian fauna used as a non-conventional pet, therefore it is increasingly common the presence of this species in the veterinary hospital care, which also includes performing laboratory screening tests, such as hematologic evaluation. However, there are few studies related to the hematology of these animals, as well as the storage methods recommended. This project aims to evaluate which anticoagulant best preserves the erythrocytes of jabuti-piranga, using the erythrocyte osmotic fragility test. Whole blood was collected from 10 specimens of *Chelonoidis carbonarius*, which was then stored in 6 different solutions: 3% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA); 5% EDTA; dipotassium (K2) EDTA; sodium heparin at concentration of 100 IU; sodium heparin at concentration of 200 IU; and 3,2% sodium citrate. The samples were then processed to perform the erythrocyte osmotic fragility test using 7 concentrations of 10,5% NaCl-PO₄ stock solution: 0,65%, 0,55%, 0,45%, 0,35%, 0,25%, 0,15% e 0,05%. The results indicated that although there were no statistical differences between the anticoagulants tested, there is a tendency to less hemolysis with the use of sodium heparin at concentration of 100 IU in comparison with the others analyzed. There is a great difficulty in establishing the best anticoagulant in exotic species and little information in the literature, making it important to carry out more studies related to hematology of these species, including jabuti-piranga.

Key words: Hematology; Jabuti; Hemolysis; Storage.

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT	6
SUMÁRIO.....	7
1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS.....	9
2.1 Objetivo geral.....	9
2.2 Objetivos específicos	9
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
5 CONCLUSÃO.....	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16

1 INTRODUÇÃO

Segundo Costa & Bérnils (2018), das 795 espécies de répteis presentes no Brasil, sem considerar as subespécies, 36 são pertencentes à ordem Testudines (Batsch, 1788), também chamados de quelônios. A família Testudinidae é composta por quelônios terrestres, sendo subdividida em gêneros. No Brasil, seus principais representantes são os animais pertencentes ao gênero *Chelonoidis*, anteriormente subgênero de *Geochelone* (LE et al., 2006), popularmente chamados de jabutis, havendo duas espécies de importância: *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824) ou jabuti-piranga, e *Chelonoidis denticulatus* (Linnaeus, 1766) ou jabuti-tinga.

Apesar de não constarem na “Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção” (BRASIL, 2014), essas espécies sofrem com intensa pressão humana, sendo comercializadas ilegalmente para diversos fins, incluindo uso como animal pet não convencional (LACAVA & BALESTRA, 2019; SILVA et al., 2015), o que justifica a importância do entendimento da fisiologia geral destes animais dentro da Medicina Veterinária de Animais Silvestres.

Os répteis possuem hemácias nucleadas de formato elíptico e com núcleo central sustentado por filamentos do citoesqueleto, que promovem maior suporte à membrana plasmática (MARTINS et al., 2016; ALDRICH et al., 2006). Supõe-se que a menor demanda por oxigênio e o metabolismo mais lento dessas espécies pode explicar a meia vida mais longa dos eritrócitos, chegando aproximadamente aos 600 dias (ATLAND & BRACE, 1962; HAWKEY et al., 1991).

A osmolaridade da célula e composição de membrana, bem como suas propriedades biomecânicas de extensibilidade frente a um estresse osmótico, apesar de bastante estudadas em mamíferos, são pouco descritas em répteis (TROIANO et al., 2000; STUART et al., 2024).

Uma das formas de determinar possíveis alterações eritrocitárias em humanos, hereditárias ou adquiridas, é por meio do teste de fragilidade osmótica, que se pauta na incubação das hemácias de um animal em meios progressivamente mais hipotônicos, desencadeando um estresse osmótico, com consequente aumento do volume celular e hemólise. A hemoglobina liberada por estas células é medida por espectrofotometria, a partir da qual é possível fazer a curva de fragilidade osmótica (TRITSCHLER et al., 2016; ISHIKAWA et al., 2010), sendo uma ferramenta interessante a ser usada na hematologia de

animais silvestres.

Segundo Aldrich et al. (2006), que comparou os achados de fragilidade osmótica eritrocitária entre mamíferos, répteis e anfíbios, as características fisiológicas e composição das hemácias interferem de forma significativa na fragilidade osmótica das diferentes classes animais. Hemácias nucleadas e de tamanho maior também se mostraram mais resistentes por este teste, corroborando com outros estudos (RADISIC et al., 2020).

O tipo de anticoagulante utilizado para manter a viabilidade celular para análise hematológica é sabidamente um fator que pode interferir na morfologia das células e, portanto, nos resultados laboratoriais obtidos, visto que os anticoagulantes diferem entre si na forma de ação para impedir a coagulação (HARR et al., 2005).

Genericamente é preconizado o uso de heparina em répteis, que inclusive é o anticoagulante utilizado para determinação das referências hematológicas existentes na maior parte das espécies desta Classe, devido a crença que o uso de outros anticoagulantes, como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), pode causar hemólise, em particular em quelônios (MURO et al., 1998). Apesar de vários estudos apontarem que o uso de EDTA de fato não é recomendado em quelônios (PERPIÑÁN et al., 2010; KLEIN et al., 2021), segundo Davidson et al. (2024) este anticoagulante pode ser utilizado em determinadas espécies sem grandes alterações quando comparada a heparina sódica, assim como observado em *Podocnemis unifilis* (FURTADO et al., 2022).

Reitera-se, portanto a necessidade de estudos espécie-específicos, visto que o uso de outros anticoagulantes é pouco explorado em quelônios e não há estudos suficientes que comprovem associação taxonômica à ocorrência de hemólise pelo uso de EDTA (MARTINEZ-JIMENEZ et al., 2007; DAVIDSON et al., 2024).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Determinar qual o anticoagulante que melhor mantém a viabilidade eritrocitária na espécie *Chelonoidis carbonarius*, popularmente chamada de jabuti- piranga.

2.2 Objetivos específicos

Identificar o grau de hemólise nos diferentes anticoagulantes testados, sendo eles a heparina sódica na concentração de 100 UI; heparina sódica na concentração de 200 UI;

EDTA dipotássico (K2); EDTA dissódico a 3%; EDTA dissódico a 5%; e citrato de sódio a 3,2%.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A seleção dos jabutis foi pautada no pesovivo dos animais, escolhendo-se 10 indivíduos com peso entre 3,0 a 5,0 kg, não havendo distinção de sexo e idade, sendo todos adultos. Os animais são alocados no mesmo recinto e alimentados com a mesma dieta, composta por 60% de verduras, 20% de legumes, 10% de proteínas e 10% de frutas.

A coleta das amostras foi realizada no mês de novembro de 2024. Os animais foram submetidos a sedação com propofol genérico (10 mg/mL) em forma de bolus intravenoso na dose de 3 a 5 mg/kg (FLEMING, 2008), por meio de acesso no seio sub-carapacial com cateter intravenoso 22G (0,90x25 mm) SAFELET NIPRO®, de forma a facilitar a coleta de amostras sangue total pela veia jugular. As coletas foram realizadas a partir do uso de seringas de 3,0 mL da marca Descarpac® e agulhas hipodérmicas 20 x 0,55 mm (24G) da marca Solidor®, respeitando-se a volemia dos animais de acordo com o peso (coleta de 0,5 a 0,8% do peso vivo).

No total, foram obtidos 2,0 mL de sangue total de cada animal, cujas alíquotas foram acondicionadas em seis diferentes anticoagulantes, resultando no acondicionamento de 0,5 mL em microtubo comercial de EDTA dipotássico (K2) da marca Vacuplast®; 0,3 mL em *eppendorf*® contendo 9µL de EDTA dissódico (marca Dinâmica®) a 3%; 0,3 mL em *eppendorf*® contendo 9µL de EDTA dissódico (marca Dinâmica®) a 5%; 0,3 mL em *eppendorf*® contendo 30 µL de citrato de sódio a 3,2%, obtido de tubo comercial da marca Vacuplast® (proporção de 1:9); 0,3 mL em *eppendorf*® contendo 9µL de 100 UI de heparina sódica obtida da marca Hepamax-S® (diluição da heparina 5.000 UI na proporção de 1:50 em água destilada); e 0,3 mL em *eppendorf*® contendo 9µL de 200 UI de heparina sódica obtida da marca Hepamax-S® (diluição de heparina 5.000 UI na proporção de 1:25 em água destilada). Com exceção do tubo de EDTA K2, todos os anticoagulantes foram preparados de forma manual, respeitando-se a proporção de anticoagulante e sangue total de cada concentração de anticoagulante utilizada (ISHIKAWA et al., 2010).

As amostras de cada animal foram enviadas para o Laboratório Clínico Veterinário, localizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Unesp, Campus de Botucatu, para a realização do teste de fragilidade osmótica eritrocitária, de acordo com o descrito por Parpart et al. (1947), utilizando-se o método modificado para

peixes de Ishikawa et al. (2010). Dessa forma foi usada uma solução estoque de NaCl-PO₄ a 10,5% de pH 7,4, conforme medido em pHmetro AK103 da marca AKSO®, e a partir dela foram realizadas diluições em série em água destilada da solução estoque em diferentes concentrações, sendo utilizadas nesse estudo as concentrações 0,65%, 0,55%, 0,45%, 0,35%, 0,25%, 0,15% e 0,05%, chamadas de soluções de uso de NaCl-PO₄.

Foram então realizadas diluições nas diferentes concentrações descritas anteriormente, respeitando a proporção de 1:100 de sangue total, sendo utilizado para tal 5 µL de sangue de cada anticoagulante. Após diluição, foram realizadas três homogeneizações de cada solução obtida com intervalo de 10 minutos, sendo submetidas a centrifugação na centrífuga sorológica ALB 32/15CS Inbrás® na rotação de 1.265 rpm (314g) por 5 minutos.

Após centrifugação, foi feita a diluição de cada amostra em solução comercial de Drabkin da marca Dinâmica® na proporção de 1:50 de sobrenadante de cada solução de uso, para determinação, a partir do uso do aparelho bioquímico semiautomático BIO PLUS® 2000/200, da absorbância da solução no comprimento de onda de 546 nm. O aparelho foi calibrado previamente com padrão de hemoglobina da marca Labtest®, e antes da determinação da absorbância das amostras foi passada água destilada como solução em branco. As amostras permaneceram acondicionadas em temperatura ambiente (20 a 25°C) durante todo o processamento, que foi realizado em até 3 horas após a coleta.

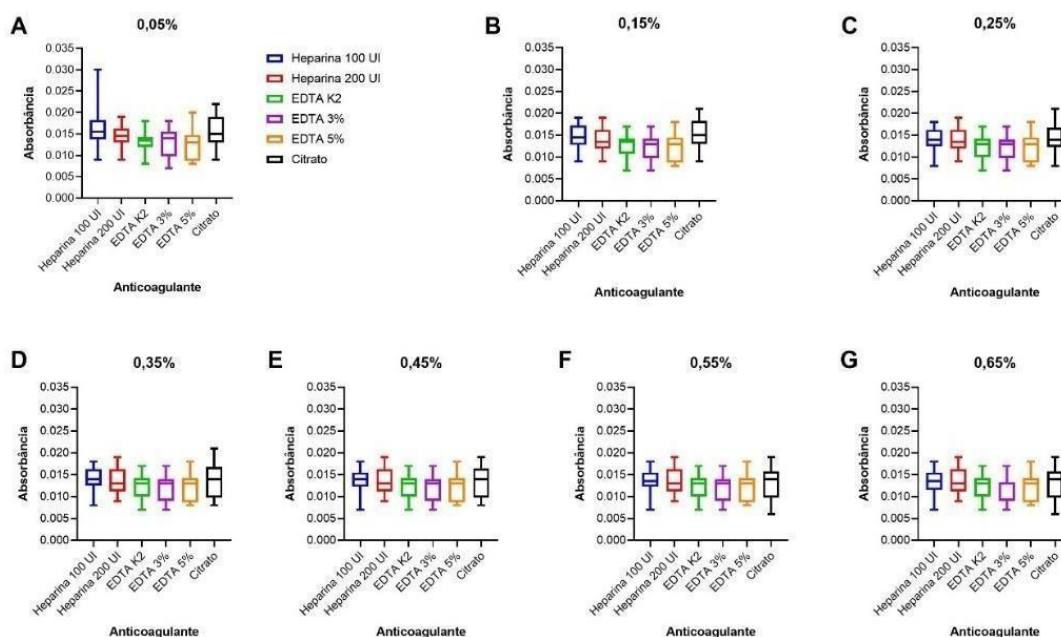
A leitura em absorbância na concentração de 0,05% da solução de uso representa 100% de hemólise da amostra, e a porcentagem de hemólise em outras concentrações é obtida a partir da comparação com a leitura na concentração de 0,05% da solução de uso. Após obtenção dos resultados foi possível detectar então o grau de hemólise da amostra, demonstrado por meio da curva de fragilidade osmótica, que considera as concentrações das soluções de uso de NaCl-PO₄ utilizadas (eixo x) e a porcentagem de hemólise (eixo y).

Foi realizada curva de fragilidade osmótica baseada na média entre os 10 animais, comparando, em um único gráfico, os diferentes resultados obtidos a partir do uso de diferentes anticoagulantes. Os resultados obtidos foram tabulados e submetidos a análise descritiva, e em seguida as variáveis foram avaliadas quanto à normalidade (Shapiro-Wilk) utilizando o software SAS on domain. As médias das absorbâncias de cada anticoagulante nas diferentes concentrações da solução de uso de NaCl-PO₄ foram submetidas a análises estatísticas, adotando o nível 5% de significância, e a comparação entre elas foi realizada por meio dos testes ANOVA e t para variáveis paramétricas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve no presente estudo, diferenças estatísticas entre os anticoagulantes utilizados ($p > 0,05$), como demonstrado na figura 1.

Figura 1 - Distribuição das médias e desvio-padrão de amostras acondicionadas em diferentes anticoagulantes nas concentrações da solução de uso de NaCl-PO₄.

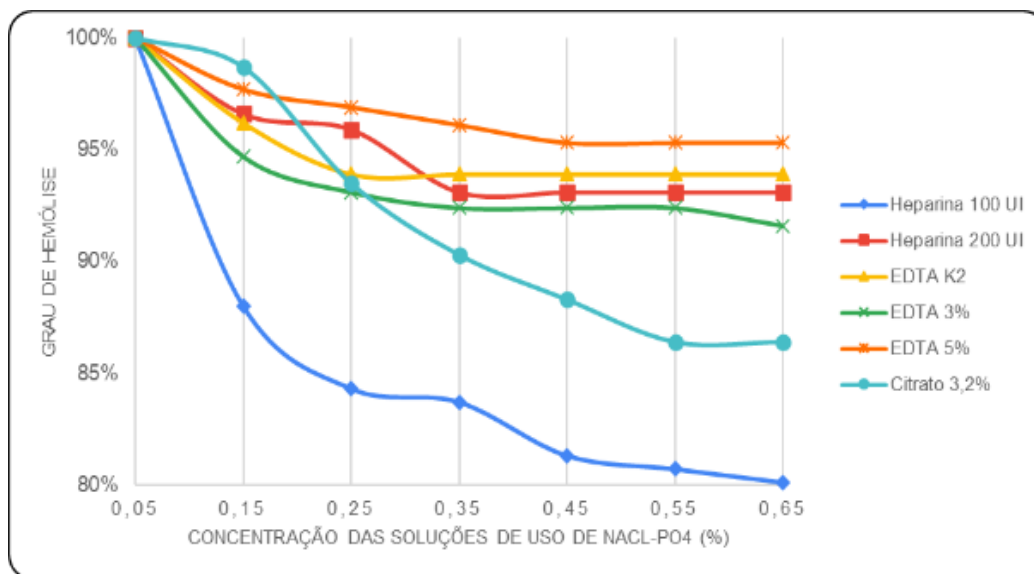


O teste de fragilidade osmótica se pauta na capacidade dos eritrócitos de aumentarem de volume em meios gradativamente mais hipotônicos até que ocorra lise das hemácias, sendo considerado o volume hemolítico crítico o volume máximo que a célula atinge antes da lise. Esta capacidade pode variar de acordo com a idade e formato dos eritrócitos e com a composição da membrana celular, que também pode se alterar devido a fatores extrínsecos (WALSKI et al., 2014). De acordo com Troiano et al. (2000), a extensibilidade de membrana é um fator que afeta bastante a fragilidade osmótica eritrocitária em répteis, ainda mais que o tamanho celular e a presença de núcleo nestas células.

Ainda assim, diversos estudos em diferentes espécies animais evidenciam que não há apenas um agente envolvido no comportamento das células frente a um estresse osmótico, sendo um conjunto de fatores, desde mecanismos de transporte ativo de moléculas a distribuição de água nas células, que também se altera de acordo com o volume osmoticamente inativo dos eritrócitos (ALONI et al., 1977; DENYSOVA & NITSCHKE, 2022). Dessa forma, é importante não só conhecer a estrutura celular, mas também sua dinâmica dentro do organismo do animal, que é pouco estudada em répteis.

Apesar disso, há uma tendência de menor hemólise com o uso de heparina sódica 100 UI em relação aos outros anticoagulantes testados, seguido pelo citrato de sódio a 3,2%, como demonstrado na figura 2, que evidencia as curvas de fragilidade osmótica obtidas a partir das médias entre os 10 animais utilizados.

Figura 2 - Curvas de fragilidade osmótica dos eritrócitos de jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonarius*) em diferentes anticoagulantes.



O presente projeto é um estudo piloto de fragilidade eritrocitária em jabutis-piranga. Portanto, algumas considerações devem ser feitas em relação aos métodos utilizados, visto que foram adaptados de um modelo experimental para peixes (ISHIKAWA et al., 2010), que pode ter contribuído para ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os anticoagulantes testados.

Deve-se considerar primeiramente que apesar de estudos anteriores reiterarem a tendência dos répteis a maior resistência eritrocitária devido as suas características fisiológicas (ALDRICH et al., 2006), as osmolaridades das soluções de uso de NaCl-PO₄ utilizadas ainda podem ter sido baixas para os eritrócitos de *Chelonoidis carbonarius*, que possivelmente são resistentes em meios com maior osmolaridade ou apresentam um mecanismo diferente de osmoregulação, levando a lise eritrocitária independente do anticoagulante, fato que pode explicar a ausência de diferença estatística entre os resultados de absorbância obtidos nas diferentes concentrações das soluções de uso de NaCl-PO₄ em cada anticoagulante ($p > 0,05$). Dessa forma, o ideal seria ampliar a gama de concentrações das soluções de uso utilizadas, até que houvesse pelo menos , menos que 50% de hemólise, o que não ocorreu.

Ainda assim, os resultados obtidos vão contra o esperado de acordo com o observado em outros estudos em répteis (RADISIC et al., 2020; TROIANO et al., 2000), visto que independentemente do anticoagulante e da concentração das soluções de uso, a hemólise ocorreu em mais de 50% das hemácias. Isto pode ser decorrente tanto de características específicas dos eritrócitos de *Chelonoidis carbonarius*, que além de apresentarem diferentes mecanismos de osmoregulação como comentado anteriormente, podem ser menos flexíveis comparado a outras espécies estudadas, quanto do teste em si, dado que é uma técnica laboriosa e técnico-dependente, sendo assim mais sujeito a erros. A variação da forma de realização do teste de fragilidade osmótica em diferentes estudos também pode explicar as diferenças dos resultados obtidos em cada um deles (MAFUVADZE & ERLWANGE, 2007; SARKAR et al., 1999, TROIANO et al., 2000).

Outra questão a ser levada em consideração é que foi utilizado como referência de hemólise apenas os valores obtidos à concentração de 0,05% da solução de uso NaCl-PO₄, não sendo realizados esfregaços sanguíneos, nem determinado o hematócrito dos sangues armazenados nos diferentes anticoagulantes por meio da técnica de microhematócrito.

Além disso, não foi realizado o teste de fragilidade osmótica dos eritrócitos apartir do sangue total sem anticoagulante como controle, o que auxiliaria na interpretação dos resultados, visto que seria possível avaliar a real dinâmica eritrocitária da espécie estudada sem interferência dos anticoagulantes.

Mesmo com as limitações do presente estudo, é possível afirmar que os resultados obtidos corroboram com estudos prévios em quelônios (PERPIÑÁN et al., 2010; KLEIN et al., 2021), visto que mesmo em concentrações maiores da solução de NaCl-PO₄ tanto o EDTA dipotássico quanto o dissódico, nas duas concentrações testadas, causaram marcada hemólise. O mecanismo exato de hemólise causada pelo uso de EDTA como anticoagulante ainda é desconhecido, apesar de já terem sido levantadas hipóteses sobre a interferência deste anticoagulante na regulação da permeabilidade da membrana plasmática dos eritrócitos de quelônios, visto que a quelação do cálcio pode aumentar a permeabilidade de membrana a outros cátions, alterando o gradiente osmótico da célula (LYMAN, 1945).

Apesar de não haver diferenças estatísticas entre os resultados, de acordo com a curva de fragilidade osmótica obtida o citrato de sódio a 3,2% foi o segundo anticoagulante com maior tendência a manter a viabilidade eritrocitária de acordo com o teste de fragilidade osmótica, o que corroboraria com os achados de Garcia et al. (2021), que evidenciaram mínima hemólise com uso de citrato de sódio em espécimes de *Podocnemis expansa*, não

havendo grandes alterações morfológicas em relação à heparina sódica.

A heparina sódica na concentração de 100 UI mostrou ser, pela curva osmótica obtida, a com menor tendência a hemólise em concentrações de solução de uso maiores, indo de encontro com outros estudos em quelônios (GARCIA et al., 2021; KLEIN et al., 2021; DAVIDSON et al., 2024). Porém, o uso do mesmo anticoagulante à 200 UI causou hemólise significativa, semelhante à observada com EDTA, possivelmente porque a concentração utilizada foi grande o suficiente para causar lise eritrocitária independente da concentração da solução de uso.

Por fim, os anticoagulantes foram escolhidos com base na aplicabilidade do seu uso na rotina hospitalar do Hospital Veterinário da FMVZ – Unesp Botucatu, não excluindo a possibilidade de eficácia no uso de outros anticoagulantes comercialmente disponíveis no Brasil.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo evidencia que apesar de não haver diferenças estatísticas em relação aos diferentes anticoagulantes nos resultados obtidos, a heparina sódica em concentração de 100 UI tende a ser mais eficaz visto que foi o anticoagulante que apresentou menos hemólise (80%) na concentração de 0,65%. Portanto, o ideal é adaptar a técnica utilizada para realização do teste de fragilidade eritrocitária em estudos futuros em *Chelonoidis carbonarius*, de forma a obter resultados conclusivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COSTA, Henrique Caldeira; BÉRNILS, Renato S. Répteis do Brasil e suas Unidades Federativas: Lista de espécies. **Herpetologia Brasileira**. v. 7, p. 11–57, 2018.
- LE, Minh et al. Amolecular phylogeny of tortoises (Testudines: Testudinidae) based on mitochondrial and nuclear genes. **Molecular phylogenetics and Evolution**. v. 40, n. 2, p. 517-531, 2006.
- BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Portaria n. 444, de 17 de dezembro de 2014. “**Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção**”, 2014 a.
- LACAVA, Roberto Victor; BALESTRA, Rafael Antonio Machado (Eds.). Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Quelônios Amazônicos. **Brasília: Ibama**. 2019, 192p.
- SILVA, T. L.; VENANCIO, L. P. R.; BONINI-DOMINGOS, C. R. Thesis Abstract Morphological and phylogeographic analysis of Brazilian tortoises (Testudinidae). **Genetics and molecular research: GMR**. v. 14, n. 4, p. 18604– 18606, 2015.
- MARTINS, G. S. et al. Cytochemical characteristics of blood cells from Brazilian tortoises (Testudines: Testudinidae). **Genetics and molecular research: GMR**. v.15, n. 1, 2016.
- ALDRICH, Kevin J. et al. Comparison of erythrocyte osmotic fragility among amphibians, reptiles, birds and mammals. **Transactions of the Kansas Academy of Science**. v. 109, p. 149-158, 2006.
- ATLAND, P. D.; BRACE, K. C. Red cell life span in the turtle and toad. **Am. J. Physiol**. v. 203, n. 6, p. 1188-1190, 1962.
- HAWKEY et al. Erythrocyte size, number and haemoglobin content in vertebrates. **British Journal of Haematology**. v. 77, n. 3, p. 392–397, 1991.
- TROIANO, J. C. et al. Osmotic Fragility and Erythrocyte Size in *Iguana iguana* (Sauria – Iguanidae) in Captivity. **Comparative Haematology International**. v. 10, p. 14-18, 2000.
- STUART, Charlotte M. et al. Mild Systemic Inflammation Increases Erythrocyte Fragility. **Int. J. Mol. Sci**. v. 25, n. 13, p. 7027, 2024.
- TRITSCHLER, Claudia et al. Increased erythrocytic osmotic fragility in anemic domestic shorthair and purebred cats. **Journal of feline medicine and surgery**. v. 18, n. 6, p. 462-470, 2016.
- ISHIKAWA, M. M. et al. Heparina e Na2EDTA como anticoagulantes para surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*): eficácia e alterações hematológicas. **Ciência Rural**. v. 40, n. 7, p. 1557-1561, jul. 2010.
- RADISIC, Rebecca et al. Red blood cell osmotic fragility in healthy loggerhead and green sea turtles. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 32, n. 6, p. 908-911, 2020.
- HARR, Kendal E. et al. Temporal effects of 3 commonly used anticoagulants on hematologic

and biochemical variables in blood samples from macaws and Burmese pythons. **Veterinary Clinical Pathology, Columbia**. v. 34, n. 4, p. 383- 388, 2005.

MURO, J. et al. Effects of lithium heparin and tripotassium EDTA on hematologic values of Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). **J. Zoo Wildl. Med.** v. 29, p. 40– 44, 1998.

PERPIÑÁN, David; ARMSTRONG, Douglas L.; DÓREA, Fernanda. Effect of Anticoagulant and Venipuncture Site on Hematology and Serum Chemistries of the Spiny Softshell Turtle (*Apalone spinifera*). **Journal of Herpetological Medicine and Surgery**. v. 20, n. 2, p. 74-78, jun. 2010.

KLEIN, Katy et al. COMPARING THE EFFECTS OF LITHIUM HEPARIN AND DIPOTASSIUM ETHYLENEDIAMINETETRAACETIC ACID ON HEMATOLOGIC VALUES IN EASTERN BOX TURTLES (*TERRAPENE CAROLINA CAROLINA*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine: Official publication of the American Association of Zoo Veterinarians**. v. 51, n. 4, p. 999- 1006, 2021.

DAVIDSON, Alexis et al. COMPARING THE EFFECTS OF DIPOTASSIUM ETHYLENEDIAMINETETRAACETIC ACID AND LITHIUM HEPARIN ON HEMATOLOGIC VALUES IN BLANDING'S TURTLES (*EMYDOIDEA BLANDINGII*), PAINTED TURTLES (*CHRYSEMYS PICTA*), AND COMMON SNAPPING TURTLES (*CHELYDRA SERPENTINA*). **Journal of zoo and wild life medicine: official publication of the American Association of Zoo Veterinarians**. v. 55, n. 1, p. 92–101, 2024.

FURTADO, Yuri Ian Carvalho et al. Anticoagulants and their effects on the hematological and biochemical parameters of yellow-spotted amazon river turtle. **Ciência Rural**. v. 52, n. 12, p. e20210489, 2022.

MARTINEZ-JIMENEZ David et al. Comparison of the effects of dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid and lithium heparin on hematologic values in yellow-blotched map turtles (*Graptemys favimaculata*). **J Herpetol Med Surg**. v. 17, n. 2, p. 36–41, 2007.

FLEMING, G. J. Clinical technique: Chelonian shell repair. **J Exotic Pet Med**. v. 17, n. 4, p. 246-258, out. 2008.

PARPART, A. K. et al. The osmotic resistance (fragility) of human red cells. **J Clin Invest**. v. 26, n. 4, p. 636-640, jul. 1947.

WALSKI, Tomasz et al. Individual osmotic fragility distribution: a new parameter for determination of the osmotic properties of human red blood cells. **Biomed Res Int**. v. 2014, 6 p., 2014.

ALONI, Beny; EITAN, Anat; LIVNE, Avinoam. The erythrocyte membrane site for the effect of temperature on osmotic fragility. **Biochimica et biophysica acta**. v. 465, n. 1, p. 46–53, 1977.

DENYSOVA, Olga; NITSCHKE, Johannes M. Conclusions about osmotically inactive volume and osmotic fragility from a detailed erythrocyte model. **J Theor Biol**. v. 539, 13 p., 2022.

MAFUVADZE, Benford; ERLWANGER, Kennedy Honey. The effect of EDTA, heparin and storage on the erythrocyte osmotic fragility, plasma osmolality and haematocrit of adult ostriches (*Struthio camelus*). **Veterinarski Arhiv**. v. 77, p. 427-434, 2007.

SARKAR, M. et al. The effect of anti-coagulants on the osmotic fragility of erythrocytes in the yak (*Poephagus grunniens*). **Vet J**. v. 157, n. 1, p. 91-93, jan. 1999.

LYMAN, R. The anti-haemolytic function of calcium in the blood of the snapping turtle, *Chelydra serpentina*. **J Cell Compar Physiol**. v. 25, n. 1, p. 65-73, 1945.

GARCIA, Guilherme C. et al. Hematologic variables of the Arrau turtle (*Podocnemis expansa*) under the effects of different anticoagulants and cytologic stains. **Veterinary clinical pathology**. v. 50, n. 2, p. 209–215, 2021.

AVALIAÇÃO DOS RESIDENTES

ANO: 2025

NOME DO RESIDENTE: Elisa de Castro Bachegga

DEPARTAMENTO: CLÍNICA VETERINÁRIA

ÁREA: Laboratório Clínico Veterinário

PRECEPTOR: Prof(a). Dr(a). Paulo Fernandes Marcusso

I – AVALIAÇÃO:

Nota das atividades realizadas no período e a entrevista (NA)	10,0
Nota do trabalho de conclusão (monografia) (NTC)	10,0
Nota do desempenho durante as atividades de Residência, emitida pelo Preceptor (ND)	10,0
Média = $\frac{(NA \times 1) + (NTC \times 1) + (ND \times 1)}{3}$	10,0

Botucatu, 26/02/2025

Prof(a). Dr(a). Regina Kiomi Takahira

Prof(a). Dr(a). Paulo Fernandes Marcusso

Prof(a). Dr(a). José Gabriel Gonçalves Lins

Documento assinado digitalmente
 REGINA KIOMI TAKAHIRA
Data: 27/02/2025 09:08:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Documento assinado digitalmente
 PAULO FERNANDES MARCUSO
Data: 11/03/2025 16:02:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Documento assinado digitalmente
 JOSE GABRIEL GONCALVES LINS
Data: 27/02/2025 09:19:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>