



GLOBAL JOURNAL OF MEDICAL RESEARCH: G
VETERINARY SCIENCE AND VETERINARY MEDICINE
Volume 20 Issue 3 Version 1.0 Year 2020
Type: Double Blind Peer Reviewed International Research Journal
Publisher: Global Journals
Online ISSN: 2249-4618 & Print ISSN: 0975-5888

Comparison between Different Techniques for Determining Hematological Parameters in Dogs

By Larissa Marchiori Sena, Théo Matos Arantes Moraes, Lorena Silveira de Almeida,
Ronaldo Eugênio de Oliveira, Ana Paula Madureira & Graziela Barioni

Universidade Federal do Espírito Santo

Abstract- The objective was to compare the hematological parameters obtained using automated, manual and estimated evaluation techniques, in order to verify whether these techniques can be used with confidence in dogs. Samples from 297 dogs were submitted to automated, manual and estimated blood count based on the hematocrit levels and platelet estimation. Fisher's Exact Test, sensitivity, specificity calculations, positive predictive value, negative predictive value and kappa agreement coefficient (k) ($p < 0.05$) were performed taking into account manual analysis as the gold standard. Hematocrit, hemoglobin and erythrocytes, presented ($k = 0.67; 0.67; 0.71$), and $p < 0,01$. Total leukocytes (TL), lymphocytes and platelets showed ($k = 0.54; 0.44; 0.42$), $p < 0,01$. Granulocytes, monocytes and eosinophils showed ($k = 0.34; 0.07; 0.01$). Automatic mean corpuscular volume (CMV) and mean corpuscular hemoglobin (MCHM) concentration showed $p > 0,05$.

Keywords: canine, hematological counter, hemogram.

GJMR-G Classification: NLMC Code: WA 360



COMPARISON BETWEEN DIFFERENT TECHNIQUES FOR DETERMINING HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN DOGS

Strictly as per the compliance and regulations of:



RESEARCH | DIVERSITY | ETHICS

© 2020. Larissa Marchiori Sena, Théo Matos Arantes Moraes, Lorena Silveira de Almeida, Ronaldo Eugênio de Oliveira, Ana Paula Madureira & Graziela Barioni. This is a research/review paper, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 3.0 Unported License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), permitting all non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Comparison between Different Techniques for Determining Hematological Parameters in Dogs

Comparação Entre Diferentes Técnicas Para Determinação Dos Parâmetros Hematológicos Em Cães

Larissa Marchiori Sena ^α, Théo Matos Arantes Moraes ^σ, Lorena Silveira de Almeida ^ρ,
Ronaldo Eugênio de Oliveira ^ω, Ana Paula Madureira [¥] & Graziela Barioni ⁵

Resumo- Objetivou-se comparar os parâmetros hematológicos obtidos por meio das técnicas de avaliação automatizada, manual e estimada, a fim de verificar se essas técnicas podem ser utilizadas com confiança em cães. Amostras de 297 cães foram submetidos ao hemograma automatizado, manual e técnica estimada com base no valor do hematócrito e estimativa plaquetária. Foram realizados o Teste Exato de Fisher, cálculos de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e coeficiente de concordância kappa (k) ($p < 0,05$) levando em consideração a análise manual como padrão ouro. Hematócrito, hemoglobina e hemácias, apresentaram ($k=0,67; 0,67; 0,71$), e $p < 0,01$. Leucócitos totais (LT), Linfócitos e plaquetas demonstraram ($k=0,54; 0,44; 0,42$), $p < 0,01$. Granulócitos, monócitos e eosinófilos apresentaram ($k=0,34; 0,07; 0,01$). O volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) automáticos apresentaram $p > 0,05$. A análise estimada mostrou fraca concordância e $p > 0,05$. Conclui-se que hemoglobina, hematócrito e hemácias automatizados podem ser utilizados. Porém, VCM e CHCM devem ser interpretados com cautela. LT podem ser utilizados apenas em animais sem alterações hematológicas. A contagem manual de leucócitos não deve ser substituída pela contagem automatizada. A contagem plaquetária automatizada pode ser empregada desde que não haja presença de agregados plaquetários. Já o eritrograma estimado, não deve ser empregado.

Palavras Chave: caninos, contador hematológico, hemograma.

Abstract- The objective was to compare the hematological parameters obtained using automated, manual and estimated evaluation techniques, in order to verify whether these techniques can be used with confidence in dogs. Samples from 297 dogs were submitted to automated, manual and estimated blood count based on the hematocrit levels and platelet estimation. Fisher's Exact Test, sensitivity, specificity calculations, positive predictive value, negative predictive value and kappa agreement coefficient (k) ($p < 0.05$) were performed taking into account manual analysis as the gold standard. Hematocrit, hemoglobin and erythrocytes, presented ($k = 0.67; 0.67; 0.71$), and $p < 0.01$. Total leukocytes (TL), lymphocytes and platelets showed ($k = 0.54; 0.44; 0.42$), $p < 0.01$. Granulocytes, monocytes and eosinophils showed ($k = 0.34; 0.07; 0.01$). Automatic mean

corpuscular volume (CMV) and mean corpuscular hemoglobin (MCHM) concentration showed $p > 0,05$. The estimated analysis showed poor agreement and $p > 0,05$. It is concluded that hemoglobin, hematocrit and automated red blood cells can be used. However, CMV and MCHM should be interpreted with caution. TL can be used only in animals without hematological changes. Manual leukocyte counting should not be replaced by automated counting. Automated platelet count can be used as long as there is no presence of platelet aggregates. The estimated erythrogram should not be used.

Keywords: canine, hematological counter, hemogram.

I. INTRODUÇÃO

O hemograma é o exame mais solicitado na rotina laboratorial devido à sua praticidade, economia e utilidade. Esse exame oferece informações que podem ser utilizadas como ferramenta pelo veterinário, para que em associação aos sinais clínicos e outros exames, sirva como aliado para o diagnóstico. Assim, o hemograma é solicitado por várias razões, seja como procedimento de triagem para avaliar a saúde do animal, na busca do diagnóstico ou prognóstico, e ainda para verificar a resposta corporal às infecções e monitoramento do progresso das doenças e tratamento ⁽¹⁾

Inicialmente o hemograma era realizado por metodologia completamente manual, que mesmo sendo mais trabalhosa, demandando tempo e profissional capacitado, ainda é considerada padrão ouro para realização deste exame, sendo este método utilizada como base para a validação de novas técnicas como os contadores hematológicos automatizados segundo o *International Council for Standardization in Haematology* ⁽²⁾.

Existem ainda, estudos que estimam os valores de hemácias, e hemoglobina por meio de cálculos, partindo do princípio que esses parâmetros são uma constante proporcional ao valor do hematócrito em animais saudáveis, sendo esse método de valia para o controle de qualidade laboratorial ⁽³⁻⁴⁾.

Com o passar do tempo, as técnicas laboratoriais foram se aprimorando, e atualmente existem disponíveis no mercado contadores hematológicos automáticos, que são capazes de

Author α : Universidade Federal do Espírito Santo.
e-mail: lmsmvvet@gmail.com

oferecer em questão de segundos os valores do eritrograma, plaquetograma e leucograma com contagens diferenciais. Esses equipamentos também oferecem parâmetros adicionais como histogramas e índices que representam a variação de cada tipo celular, além da contagem de reticulócitos ⁽¹⁾.

No entanto, esses analisadores automáticos foram programados para reconhecer células “normais”, mas quando há números significativos de células consideradas “anormais” devido a mudanças no tamanho e na forma, potenciais problemas analíticos podem ocorrer ⁽⁵⁾.

Dessa forma, devido ao grande crescimento da demanda veterinária por exames complementares e a baixa disponibilidade de estudos utilizando contadores automatizados veterinários, o objetivo do presente estudo foi comparar os parâmetros hematológicos de cães obtidos por meio das técnicas de avaliação automatizada, manual e estimada, afim de verificar se a técnica automatizada e estimada podem ser utilizadas com confiança em cães.

II. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal do Espírito Santo (CEUA-UFES) sob o número 25/2018. Foram utilizadas amostras de sangue de cães de diferentes pesos, raças e idades, atendidos na rotina clínica e cirúrgica do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo. Amostras sanguíneas que apresentavam alterações como desidratação seguida de hiperproteinemia, hemólise, icterícia e lipemia, foram excluídas do presente estudo.

No laboratório, após homogeneização, as amostras foram submetidas ao hemograma automático por meio do contador automatizado veterinário (Mindray BC2800vet® Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd) que utiliza a impedância como principal metodologia para contagem celular. Foram quantificados os valores de hemácias (HM), hemoglobina (HB), hematócrito (HT), contagem total de leucócitos (LT), contagem diferencial de leucócitos (LD), contagem plaquetária (PLT), VCM e CHCM.

Posteriormente foram realizados os procedimentos referentes ao hemograma manual. A contabilização de HM e LT foram realizadas em hemocítmetro ⁽³⁾. O HT foi realizado pela técnica tradicional do microcapilar ⁽⁶⁾.

As dosagens de HB foram realizadas por espectrofotometria em fotômetro (BIOPLUS Bio-2000®) utilizando kit colorimétrico (Labtest®), que converte a hemoglobina em ciano-meta-hemoglobina, seguindo as recomendações do fabricante ⁽⁷⁾.

Os valores estimados foram obtidos a partir do HT, sendo: $HT \times 0,33 = \text{valor de HB}$ (3) e $HT/6 = \text{valor de HM}$ ⁽⁸⁾.

Após quantificados os parâmetros, a determinação do VCM e concentração de hemoglobina corpuscular média CHCM para as técnicas manual e estimada, utilizando as fórmulas já preconizadas na literatura ⁽³⁾.

O esfregaço de sangue foi realizado como descrito por ⁽¹⁾. Após confecção e secagem, as lâminas foram fixadas em metanol e corados com corante panótico rápido (LB Larboclin®). A LD foi realizada em esfregaço sanguíneo como descrito por ⁽⁹⁾, em aumento de 400x. Os valores obtidos nessa contagem foram utilizados para o cálculo dos valores absolutos (mm^3) ⁽³⁾.

Durante a avaliação do esfregaço sanguíneo para auxílio na classificação da normalidade das amostras e observação de fatores que poderiam interferir diretamente nos resultados laboratoriais, as células da série vermelha e branca, foram avaliadas quanto a presença de alterações tóxicas, blásticas, neoplásicas, presença de policromasia, anisocitose, hipocrômica, poiquilocitose, presença de houleaux e inclusões celulares no aumento de 1000x. Todos esses parâmetros foram quantificados pelo sistema de cruzes sendo: (+) alteração leve, (++) alteração moderada, (+++) alteração intensa ⁽¹⁾.

A PLT foi realizada pelo método de observação no esfregaço sanguíneo que mesmo sendo um método estimado, é utilizado com grande frequência na maioria dos laboratórios para validação dos resultados automatizados ⁽¹⁰⁾.

A presença de alterações plaquetárias como macroplaquetas e agregados plaquetários também foram avaliadas e quantificadas pelo sistema de cruzes sendo: (+) alteração leve, (++) alteração moderada, (+++) alteração intensa ⁽¹⁾.

Todas os testes foram realizados em até 12 horas após a entrada do sangue no laboratório, sendo as amostras mantidas refrigeradas entre 4 e 8 °C. As avaliações foram realizadas sempre pelo mesmo observador um patologista clínico experiente e conferidas por um segundo avaliador. Os intervalos de normalidade para valores hematológicos foram determinados de acordo ⁽³⁾.

As análises estatísticas foram feitas utilizando o software estatístico GraphPad Prism 5.0® (Graph Prism Inc., San Diego, CA). Foram realizados o teste exato de Fisher para verificar associação entre os métodos, cálculos de sensibilidade especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) seguidos pelos seus respectivos intervalos de confiança, considerando o teste manual como padrão ouro. Foi calculado o coeficiente de concordância kappa (k) para verificar a concordância entre os métodos avaliados, com nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Além disso, para melhor interpretação, os dados foram submetidos a ANOVA paramétrica e comparação de

médias de teste T de Student também a 95% de significância ($p < 0,05$).

referentes ao Teste Exato de Fisher ($P < 0,05$) e índice de concordância Kappa, dos parâmetros HT, HM, HB, VCM e CHCM estão dispostos na Tabela 1.

III. RESULTADOS

Os resultados referentes a sensibilidade, especificidade, VPP, VPN seus respectivos IC, p valor

Tabela 1: Valores de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN, com seus respectivos intervalos de confiança (95%), p valores referentes ao Teste Exato de Fisher ($p < 0,05$) e coeficiente de concordância Kappa (k) dos parâmetros: hematócrito, hemoglobina, hemácias, CHCM, VCM e plaquetas, obtidas por meio das técnicas automatizadas e estimadas, levando em consideração a metodologia manual como padrão ouro.

Parâmetro		Automatizado	Estimado
Hematócrito (%)	Sensibilidade	97% (0,92 a 0,99)	-
	Especificidade	74% (0,66 a 0,80)	-
	VPP	71% (0,64 a 0,78)	-
	VPN	97% (0,93 a 0,99)	-
		$p = < 0,0001$ $k = 0,67$	
Hemácias (mm ³)	Sensibilidade	84% (0,76 a 0,90)	41% (0,32 a 0,50)
	Especificidade	84% (0,78 a 0,89)	65% (0,58 a 0,71)
	VPP	78% (0,69 a 0,84)	44% (0,35 a 0,54)
	VPN	88% (0,83 a 0,93)	62% (0,55 a 0,69)
		$p = < 0,0001$ $k = 0,67$	$p = 0,26$ $k = 0,06$
Hemoglobina (g/dL)	Sensibilidade	97% (0,94 a 0,99)	35% (0,27 a 0,43)
	Especificidade	74% (0,66 a 0,81)	53% (0,45 a 0,61)
	VPP	78% (0,72 a 0,74)	42% (0,33 a 0,51)
	VPN	97% (0,92 a 0,99)	45% (0,38 a 0,53)
		$p = < 0,0001$ $k = 0,71$	$p = 0,059$ $k = -0,11$
CHGM	Sensibilidade	27% (0,19 a 0,36)	0,0% (0,0 a 0,29)
	Especificidade	85% (0,79 a 0,80)	100% (0,97 a 1,0)
	VPP	56% (0,43 a 0,69)	-
	VPN	64% (0,57 a 0,70)	-
		$p = 0,004$ $k = 0,14$	$p = 1,0$ $k = 0,0$
VCM	Sensibilidade	29% (0,13 a 0,50)	0,0% (0,0 a 0,07)
	Especificidade	85% (0,80 a 0,89)	100% (0,98 a 1,0)
	VPP	17% (0,07 a 0,30)	-
	VPN	92% (0,88 a 0,95)	-
		$p = 0,05$ $k = 0,11$	$p = 1,0$ $k = 0,0$

Sendo: Volume corpuscular médio (VCM) e Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN).

Dentre as amostras avaliadas, 40,4% ($n=120$) foram considerados anêmicos com base na diminuição de um ou mais parâmetros hematológicos (HM, HT e HB). O HT esteve baixo em 100% ($n=120$) dos casos de anemia, com médias e desvios padrões de $34,8 \pm 9,5$ e $37,9 \pm 9,3$ (Tabela 2) para a técnica automatizada e

microcapilar respectivamente. Esses dados apontam para uma subestimação dos valores do HT obtidos pela técnica automatizada o que levaria a diminuição dos valores de especificidade e VPP observados neste estudo.

Tabela 2: Médias e desvios padrões dos parâmetros hemácias, hemoglobina, hematócrito, plaquetas, VCM, CHCM, leucócitos totais, granulócitos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos de amostras de sangue de 297 cães, obtidos por meio das técnicas automatizada, manual e estimada.

Parâmetro	Manual	Automatizado	Estimado
Hematócrito (%)	37,91±9,51 ^a	34,87±9,35 ^b	-
Hemoglobina (g/dL)	11,52±3,21 ^a	10,81±3,08 ^b	11,37±3,37 ^c
Hemácias (mm) ³	7,03±6,37 ^{ac}	5,76±2,89 ^b	6,25±1,35 ^{bc}
CHGM	30,19±2,80 ^a	31,18±4,32 ^a	33,00±0,0 ^b
VCM	68,16±5,01 ^a	62,90± 6,37 ^b	60,00±0,0 ^c
Leucócitos totais / mm ³	14479±12042 ^a	12612±9465 ^b	-
Linfócitos / mm ³	20,12±12,35 ^a	21,23±10,88 ^a	-
Granulócitos / mm ³	71,91±15,09 ^a	70,50±12,21 ^a	-
Monócitos / mm ³	2,71±3,00 ^a	4,88±1,50 ^b	-
Eosinófilos / mm ³	5,23±3,59 ^a	3,44±9,64 ^b	-
Plaquetas /µL	-	310,94±181,01 ^a	469,13±892,35 ^b

Os valores plaquetários são referentes a $n \times 10^3$.

Entretanto, o valor de k foi considerado satisfatório mostrando que o HT pode ser obtido por meio desta técnica em amostras sanguíneas de cães. Porém em 26% dos casos, esta análise não é capaz de fornecer o hematócrito real do animal, quando ele encontrava-se dentro da normalidade, levando a erros diagnósticos.

A mensuração da HM pelo contador automatizado apresentou valores de sensibilidade e especificidade idênticos (84%), além de boa correlação entre os métodos. Entretanto, a análise estimada mostrou baixa sensibilidade e especificidade, além de fraca correlação com a metodologia manual, de maneira que esse método não deve ser utilizado na rotina clínica.

A HB mensurada pelo analisador automático apresentou excelente índice de correlação com a análise pela espectrofotometria ($k= 0,71$). Já a técnica

estimada mostrou-se insatisfatória com baixa sensibilidade, especificidade e concordância quase nula entre os testes.

É interessante ressaltar a baixa sensibilidade e fraca concordância encontrada nos índices hematimétricos CHCM e VCM obtidos por meio da análise automatizada, levando a erros interpretativos graves que podem influenciar na conduta clínica do veterinário.

O leucograma automatizado obteve resultados menos satisfatórios quando comparados ao eritograma. Os valores referentes a sensibilidade, especificidade, VPP, VPN seus respectivos IC, p valor referentes ao Teste Exato de Fisher ($P<0,05$) e índice de concordância Kappa, dos parâmetros LT, LD e PLT estão dispostos na tabela 3.

Tabela 3: Valores de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN, com seus respectivos intervalos de confiança (95%), p valores referentes ao Teste Exato de Fisher ($p<0,05$) e coeficiente de concordância Kappa (k) dos parâmetros: leucócitos totais, granulócitos, eosinófilos, linfócitos e monócitos de amostras sanguíneas de cães, obtidas por meio das técnicas automatizadas e estimadas, levando em consideração a metodologia manual como padrão ouro.

Parâmetro		Automatizado	Estimado
Leucócitos totais/ mm ³	Sensibilidade	70% (0,60 a 0,79)	-
	Especificidade	84% (0,78 a 0,89)	-
		$p= <0,0001$	-
	VPP	66% (0,55 a 75%)	-
	VPN	87% (0,81 a 0,91)	-
		$k=0,54$	-
Granulócitos / mm ³	Sensibilidade	58% (0,49 a 0,66)	-
	Especificidade	75% (0,68 a 0,82)	-

		$p = <0,0001$	
	VPP	67% (0,58 a 0,75)	
	VPN	67% (00,60 a 0,74)	
		$k=0,34$	
Eosinófilos / mm ³	Sensibilidade	52% (0,43 a 0,60)	-
	Especificidade	49% (0,41 a 0,58)	
		$p = 0,20$	
	VPP	49% (0,41 a 0,58)	
	VPN	57% (0,49 a 0,65)	
		$k=0,07$	
Monócitos / mm ³	Sensibilidade	8% (0,04 a 0,13)	-
	Especificidade	93% (0,85 a 0,96)	
		$p = 0,65$	
	VPP	52% (0,29 a 0,74)	
	VPN	54% (0,48 a 0,60)	
		$k = 0,01$	
Plaquetas / μ L	Sensibilidade	69% (0,58 a 0,78)	-
	Especificidade	76% (0,69 a 0,81)	
		$p = <0,0001$	
	VPP	56% (0,46 a 0,65)	
	VPN	84% (0,78 a 0,89)	
		$k=0,42$	

Os valores de granulócitos são referentes a soma de neutrófilos segmentados, bastões e basófilos. Sendo: Valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN). Na avaliação plaquetária o método estimado foi considerado como padrão ouro para a análise.

LT, linfócitos e granulócitos apresentaram os melhores resultados com ($p < 0,001$) mostrando a associação entre os métodos, porém com concordância kappa considerada moderada para os dois primeiros parâmetros e fraca para os granulócitos. Desvio nuclear de neutrófilos a esquerda foram observados 7,1 % das amostras ($n=21$), e estes não puderam ser identificado pela análise automatizada.

A contagem total de leucócitos automatizada apresentou 198 valores de especificidade (84%) e VPN (87%) considerados satisfatórios, mostrando que essa leitura deve ser empregada com confiança apenas em animais com leucograma dentro da normalidade.

Na análise plaquetária, o método automático apresentou melhor capacidade de detectar animais saudáveis com 76% de especificidade, índice de concordância moderado e ($p < 0,05$). Porém, VPP que neste caso demonstra a probabilidade de um paciente classificado como trombocitopênico ou com trombocitose realmente apresentar essas alterações foi de apenas 56%.

IV. DISCUSSÕES

Para a determinação do HT pela impedância, primeiramente é determinado o VCM por meio de um histograma de distribuição e a partir deste dado é determinada o percentual total de glóbulos vermelhos

no volume injetado determinando o HT⁽¹¹⁾. Dessa forma quaisquer fatores que influenciarem a determinação do VCM alterarão o HT.

Amostras sanguíneas que apresentem anisocitose e poiquilocitose acentuada, além da presença de macroplaquetas, podem interferir na correta determinação do tamanho e estimativa celular, alterando a mensuração do VCM e consequente o HT⁽¹²⁾. Porém, uma pequena parcela dos animais, apresentaram as alterações descritas acima, explicando os bons resultados na determinação de animais realmente anêmicos.

A quantificação de HM realizada pelo equipamento automatizado é feita pelo método de impedância criado por Coulter. Este método baseia-se na medição das alterações da resistência elétrica produzida por uma partícula, de forma que a amplitude de cada pulso é proporcional ao volume de cada partícula⁽¹³⁾. Assim, a quantificação das HM é uma análise direta, não sendo secundária a outros fatores como o hematócrito, o que determina os bons resultados obtidos por essa técnica.

Baseando-se no fato da metodologia para determinação da HB em ambos as técnicas serem por conversão da HB em ciano-meta-hemoglobina⁽⁶⁾. Era esperado a boa correlação entre as metodologias, demonstrando que a metodologia automática pode ser

empregada com segurança para mensuração deste parâmetro.

Trabalhos que avaliaram a relação hemoglobina: hematócrito em bovinos, observaram a subestimação dos valores de HB quando determinadas por um terço do HT, determinando uma nova constante para o cálculo de HB na espécie ⁽⁴⁾.

A existência da constante determinando que o valor da HB constitui um terço do HT parte do princípio de que todas as HM carregam concentrações ideais de HB, dessa forma, explica-se os resultados insatisfatórios e a necessidade de novos trabalhos determinando equações para a quantificação da HB em cães.

Se tratando do VCM, a ausência de concordância entre as técnicas pode ser explicada pela diferença na metodologia para determinação desses índices. No caso da análise manual, calcula-se HM, HT e a partir de uma fórmula determina-se o VCM. Já a técnica automatizada primeiro calcula-se o VCM e a partir deste determina-se o HT. Dessa forma, a influência do fator hematócrito na análise manual, pode ter sido determinante para os resultados obtidos. Vale ressaltar ainda, que resultados insatisfatórios na determinação do VCM explicam erros dos valores de HT obtidos pela impedância.

O alto VPN (92%) do VCM na análise automatizada demonstra a alta probabilidade de animais com VCM dentro da normalidade realmente estarem normais, salientando a necessidade de maior atenção principalmente em amostras com este índice hematimétricos fora da normalidade.

Já o CHCM é calculado da mesma maneira em ambas as técnicas, dessa forma, as alterações no HT podem ter sido responsáveis pelas alterações no CHCM, levando em consideração a excelente concordância na determinação da HB.

Na análise estimada os valores do VCM e CHCM foram insatisfatórios por terem sido calculados com HM e HB também estimadas e que não apresentaram correlação com a análise manual, por serem como uma constante do HT. Assim, essa análise sempre classifica os animais com anemias normocíticas normocrômicas, explicando a sensibilidade de 0,0% e especificidade de 100%.

Discordâncias entre a contagem total e diferencial de leucócitos são decorrentes dos princípios para determinação celular que esses aparelhos apresentam. A contagem de leucócitos totais é realizada pela passagem celular na zona de detecção semelhante as hemácias, de maneira que uma substância que lisa as hemácias é aplicada e são quantificadas todas as células nucleadas. Porém, a contagem diferencial é feita com cálculos por meio do % do tamanho das células que passaram pela zona de detecção ⁽⁶⁾.

Assim, os analisadores automáticos foram programados para reconhecer células de tamanho e formato normais, dessa forma, quando há números significativos de células considerada fora do padrão, como em casos de neoplasias, neutrófilos tóxicos, monócitos reativos, podem ocorrer problemas de diferenciação e conseqüentemente quantificação celular ⁽⁵⁾.

Corroborando a estes dados, variações de 0 a 37% foram obtidas na contagem diferencial leucocitária entre diferentes metodologias de contagem automatizada ⁽¹⁴⁾. Além disso, outros trabalhos descrevem que fatores como macroplaquetas e hemácias nucleadas poderiam interferir nos resultados. Ao utilizar a metodologia automatizada para realização do hemograma, valores errôneos são obtidos em relação a leucometria total e diferencial na presença de eritrócitos jovens e macroplaquetas ⁽¹⁵⁾.

No entanto metarrubricitos e células blásticas foram observados em quantidades significativas em uma pequena parcela amostral, demonstrando que outros fatores podem estar envolvidos nos baixos resultados da contagem diferencial liberada pelo contador hematológico.

A não diferenciação de bastonetes no contador avaliado também é um fator crucial que diminui a eficiência desse equipamento, pois impossibilita o diagnóstico de desvio de neutrófilos a esquerda, mascarando casos de infecção, tornando indispensável a avaliação da lâmina de esfregaço sanguíneo pelo patologista clínico.

Discordâncias plaquetárias são decorrentes provavelmente da presença de agregados plaquetários que se formam durante a coleta e observados na leitura do esfregaço sanguíneo ⁽¹⁶⁾. Esses artefatos também foram capazes de comprometer a eficácia da determinação plaquetária em lâmina durante o presente estudo, podendo ter interferido nos resultados.

Estudos que compararam as técnicas de estimativa plaquetária em esfregaço sanguíneo com a contagem automática pela metodologia óptica, contagem plaquetária pela impedância e a avaliação imunológica, forneceram evidências de que determinação estimada, metodologia óptica e a técnica imunológica são superiores aos contadores automáticos que utilizam métodos de impedância ⁽¹⁷⁾. Outras pesquisas, também forneceram evidências que em animais com anemias microcíticas acentuadas o método de impedância superestimou significativamente as contagens de plaquetas de forma a hemácias de pequeno tamanho podem ser confundidas com plaquetas ⁽¹⁰⁾.

V. CONCLUSÕES

Os parâmetros hemácias, hemoglobina e hematócrito obtidos por meio da análise automatizada

podem ser utilizados na rotina clínica. No entanto, VCM e CHCM devem ser interpretados com cautela. A contagem total de leucócitos pode ser empregada apenas quando não há alterações hematológicas na amostra, sendo provenientes de animais hematologicamente saudáveis. No entanto, inclusive nessas circunstâncias a contagem diferencial de leucócitos deve ser realizada em lâmina pelo patologista clínico. A contagem plaquetária automática pode ser empregada desde que não haja presença de agregados plaquetários. O eritrograma estimado com base no valor do hematócrito não pode ser utilizado em amostras sanguíneas de cães.

REFERENCES RÉFÉRENCES REFERENCIAS

1. Thrall MA, Weiser G, Allison R, Campbell T.W. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2 st ed. São Paulo: Roca, 2015.
2. Briggs C, Culp N, Davist B, D'onofrio G, Zini G, Machin S.J. ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2014; 36:613-627.
3. Shalm WO, Jain NC. *Shalm's veterinary hematology*, 4 st ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 305 1986.
4. Turkson PK, Ganyo EY. Relationship between haemoglobin concentration and packed cell volume in cattle blood samples. *Journal of Veterinary Research*. 2015; 82 (1): 863-868.
5. Denicola DB. Advances in hematology analyzers. *Topics in Companion Animal Medicine*. 309 2011; 26 (2): 52-61.
6. Silva PH, Alves HB, Comar SR, Henneberg R, Merlin JC, Stingham ST. *Hematologia laboratorial: teoria e procedimentos*. 1 st ed. Porto Alegre: Artmed; 2016.
7. Bauer N, Moritz A. Evaluation of three methods for measurement of hemoglobin and calculated hemoglobin parameters with the ADVIA 2120 and ADVIA 120 in dogs, cats, and horses. *Veterinary Clinical Pathology*. 2008;31(2):173 -179.
8. Unglalaro A, Alder, HL. The correlation between packed cell volume and erythrocyte number in canine blood. *American Journal of Veterinary Research*, 1957; 18: 909-911.
9. Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH, Denicola DB. *Diagnóstico Citológico e Hematologia de Cães e Gatos*, 1 st ed. São Paulo:Medvet; 2009.
10. Boulassel MR, Farsi ALR, Hashmi SAL, Rivani ALH, Khan H, Kindi ALS, Accuracy of Platelet Counting by Optical and Impedance Methods in Patients with Thrombocytopenia and Microcytosis. *Sultan Qaboos University medical journal*, 2015; 15 (4): 463-468a.
11. Cha K, Faris R, Brown E, Wilmore, D. An electronic method for rapid measurement of haematocrit in blood samples. *Physiological Measurement*. 1994; 15:129-137.
12. Zelmanovic D, Hetherington EJ. Automated analysis of feline platelets in whole blood, including platelet count, mean platelet volume and activation state. *Veterinary Clinical Pathology*.1998; 27(2): 2-9.
13. Coulter WH. High speed automatic blood cell counter and cell size analyzer. *Proc Natl Electron Conference*. 1956; 12 (12):1034-40.
14. Steele BW, Niou-ching WU, Whitcomb, C. White Blood Cell and Platelet Counting Performance by Hematology Analyzers: A Critical Evaluation. *Laboratory Hematology*. 2001; 331 7: 255-266, 2001.
15. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2007; 29 (1):335 21-41.
16. Tasker S, Cripps PJ, Mackin AJ. Evaluation of methods of platelet counting in the cat. *Journal of Small Animal Practice*. 2001; 42 (7): 326-332.
17. Boulassel MR, Farsi ALR, Hashmi SAL, Kind ALS. Comparative analysis of four methods for enumeration of platelet counts in thrombocytopenic patients. *Journal of Applied Hematology*. 340 2015; 6 (3): 119-124b.