

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v18n11e1676>

Análise comparativa entre metodologias para determinação do hematócrito de cães e equinos

Thiago Oliveira de Almeida¹, Anna Laura Rodrigues Cabral^{2*} , Camila Ribeiro Cibien Machado², Tiago Martins do Prado²

¹Coordenador e Professor do curso de Bacharelado em Medicina Veterinária, Faculdade Brasileira de Ensino Multivix, Unidade Goiabeiras, Vitória, Espírito Santo, Brasil.

²Graduandos do curso de Bacharelado em Medicina Veterinária, Faculdade Brasileira de Ensino Multivix, Unidade Goiabeiras, Vitória, Espírito Santo, Brasil.

*Autor para correspondência, e-mail: annalauradelaura@gmail.com.

Resumo. Este estudo teve como objetivo analisar e comparar estatisticamente os valores de hematócrito obtidos a partir do processamento de amostras de sangue total em EDTA de 20 cães e 17 equinos pela metodologia de microhematócrito e pelo analisador hematológico de três partes VH20 da GENVET, a fim de verificar a acurácia da análise automatizada. A técnica automatizada demonstrou resultados estatisticamente semelhantes, com um viés médio de 1,47% entre as metodologias na espécie canina e 1,48% na espécie equina. Concluiu-se que a análise automatizada produz resultados com variabilidade mínima, pouco afetando a interpretação laboratorial do índice de hematócrito nos pacientes caninos e equinos.

Palavras-chave: Automatização, hematologia, patologia, veterinária

Comparative analysis between methodologies for determining the hematocrit of dogs and horses

Abstract. This study aimed to analyze and statistically compare the hematocrit values obtained from the processing of whole blood samples in EDTA from 20 dogs and 17 horses using the microhematocrit methodology and the GENVET 3-part VH20 Hematological Analyzer, in order to verify the accuracy of automated analysis. The automated technique demonstrated statistically similar results, with an average bias of 1.47% between the methodologies in the canine species and 1.48% in the equine species. It was concluded that automated analysis produces results with minimal variability, little affecting the laboratory interpretation of the hematocrit index in canine and equine patients.

Keywords: Automation, hematology, pathology, veterinary

Análisis comparativo entre metodologías para la determinación del hematocrito de perros y caballos

Resumen. Este estudio tuvo como objetivo analizar y comparar estadísticamente los valores de hematocrito obtenidos del procesamiento de muestras de sangre total en EDTA de 20 perros y 17 caballos utilizando la metodología de micro hematocrito y el analizador hematológico GENVET 3 partes VH20, con el fin de verificar la precisión de análisis automatizada. La técnica automatizada demostró resultados estadísticamente similares, con un sesgo promedio de 1,47% entre las metodologías en la especie canina y 1,48% en la especie equina. Se concluyó que el análisis automatizado produce resultados con mínima

variabilidad, afectando poco la interpretación de laboratorio del índice de hematocrito en pacientes caninos y equinos.

Palabras clave: Automatización, hematología, patología, veterinaria

Introdução

Atualmente, os animais vêm cada vez mais sendo incluídos nos meios familiares em um processo de antropomorfização ([Amaral & Trevisan, 2018](#); [Ferreira & Sampaio, 2010](#); [Young, 1985](#)). Desta forma, um aumento da importância e relevância da Medicina Veterinária na sociedade também tem sido observado ([McCulloch, 1985](#); [Tatibana & Costa-Val, 2009](#)).

Os laboratórios de patologia clínica têm como finalidade auxiliar o médico veterinário no que tange os diagnósticos emergenciais, ambulatoriais e assistência de pacientes visando a avaliação de quadros clínicos em um curto intervalo de tempo ([Reis & Fonseca, 2024](#); [Silva et al., 2014](#)). Segundo [Athanasiou et al. \(2016\)](#), a hematologia é o setor da patologia clínica que apresenta maior demanda, em vista que o hemograma é um dos exames complementares mais solicitados na rotina. Logo, se faz necessária a padronização e aperfeiçoamento das técnicas laboratoriais a fim de reduzir erros analíticos e conferir maior confiabilidade aos resultados ([Chaves, 2010](#); [Lee, 2019](#); [Leonart, 2010](#)).

Os sistemas automatizados para análise hematológica vêm obtendo cada vez mais destaque nos últimos anos, apresentando menor custo, maior precisão e agilidade que os métodos manuais ([Goyena & Fallis, 2016](#); [Naoum, 2001](#); [Paes et al., 2009](#)). Os analisadores hematológicos automatizados utilizam basicamente as seguintes metodologias para contagem celular sanguínea: análise automatizada de impedância, análise citométrica de fluxo e análise quantitativa de creme leucocitário ([DeNicola, 2011](#)), sendo o primeiro contador automatizado de células sanguíneas por impedância desenvolvido em 1968 por Coulter, denominado “*The seven-parameter Coulter Counter*®” ([Graham, 2003](#)).

O objetivo deste artigo foi proporcionar uma análise comparativa entre os valores de hematócrito (HCT) obtidos pelo método de microhematócrito e pelo analisador hematológico de 3 partes VH20 da GENVET, a fim de demonstrar a acurácia do método automatizado, além de apresentar informações relevantes a respeito da hematologia automatizada, sua história, tecnologia e confiabilidade.

Material e métodos

Para atingir os objetivos apresentados, o estudo foi dividido em duas fases: coleta e processamento laboratorial. A primeira fase consistiu na coleta de amostras de sangue de 20 cães e 20 equinos em atendimento na Clínica Veterinária Rancho Bela Vista, localizada no município de Serra, Espírito Santo. Para as coletas foram utilizadas seringas de 3 mL/5 mL, agulhas 25 x 0,70 mm e 40 x 1,20 mm e tubos de EDTA para hemograma. As amostras foram transportadas e acondicionadas por até 24 horas em recipientes de isopor em geladeiras na temperatura média de 5 °C até o processamento no laboratório de patologia da Clínica Veterinária da Faculdade Multivix, localizada em Vitória, Espírito Santo. Não houve condições prévias para escolha dos pacientes, como sexo, idade e diagnóstico, em vista que o estudo se baseou em uma análise comparativa de resultados.

A segunda fase procedeu-se ao estudo laboratorial efetuando o processamento das amostras, sendo as amostras de cães identificadas de n° 1 a n° 20 e de equinos de n° 1 a n° 20. O contador hematológico utilizado para o método automatizado foi o analisador hematológico de três partes VH20 da GENVET. Conferiu-se a viabilidade das amostras para análise anteriormente ao processamento, uma vez que coágulos sanguíneos poderiam danificar o equipamento, desta forma as amostras de 3 pacientes equinos foram descartadas. Efetuou-se o processamento das amostras devidamente identificadas e foram registrados os valores de HCT. Após a análise automatizada, as amostras foram submetidas a metodologia manual, na qual processaram-se pelo método de microhematócrito com análise dos resultados por cartão de leitura para esta técnica. Os dados e resultados de HCT coletados de cada metodologia foram organizados em planilhas pelo software Microsoft Excel 2020® e espelhados em valores absolutos e relativos (percentuais) em tabelas.

Não houve necessidade de solicitar avaliação por Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), em vista que as amostras de sangue coletadas também serviram para processamento de exames

complementares solicitados pelos médicos veterinários responsáveis, sendo a reutilização das amostras permitida pelos médicos veterinários e pela empresa.

Resultados

Ao total, das 40 amostras de sangue total coletadas, sendo 20 amostras de cães e 20 amostras de equinos, 37 amostras foram processadas pelas metodologias de microhematócrito e analisador hematológico automatizado.

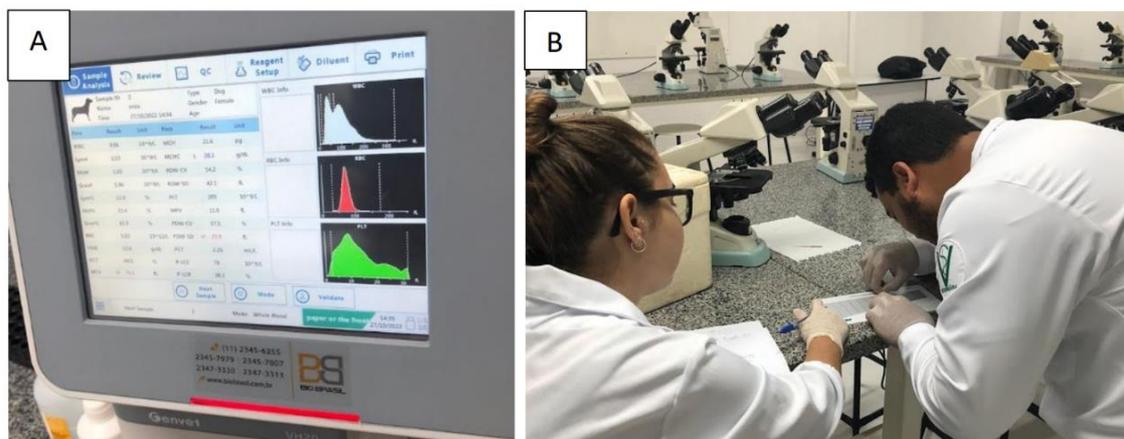


Figura 1. Imagens fotográficas do visor do Analisador Hematológico de 3 partes VH20 da GENVET (A) e dos graduandos analisando capilar em cartão de leitura de microhematócrito (B) em laboratório da Faculdade Multivix Vitória.

Os resultados dos valores de HCT obtidos pelas duas metodologias para cada animal foram organizadas em tabelas e um viés médio foi determinado. Para determinação da variância de cada metodologia por animal, foi feita subtração entre os valores de HCT obtidos. As variâncias de todos os pacientes por espécie, canina e equina, foram somadas e divididas pela quantidade total de indivíduos, gerando o viés médio de acurácia da metodologia automatizada em relação a metodologia manual. O viés médio encontrado para a espécie canina foi de 1,47% e para a espécie equina foi de 1,48%, conforme apresentado em [Tabelas 1 e 2](#), respectivamente.

Tabela 1. Resultados dos valores de HCT obtidos pela metodologia de microhematócrito e pelo analisador hematológico automatizado de 20 cães, sua variância e o viés médio geral da espécie

Identificação, n ^o	HCT* (AHA**)	HCT* (MHCT***)	Variância
1	53,1%	52%	1,1%
2	44,5%	44%	0,5%
3	44,6%	43%	1,6%
4	50,4%	46%	4,4%
5	39,2%	36%	3,2%
6	43,9%	45%	1,1%
7	50,3%	49%	1,3%
8	43,1%	42%	1,1%
9	33,6%	35%	1,4%
10	39,3%	41%	1,7%
11	55,4%	54%	1,4%
12	49,7%	49%	0,7%
13	40,7%	42%	1,3%
14	51,7%	51%	0,7%
15	47,2%	46%	1,2%
16	47,1%	45%	2,1%
17	44,3%	44%	0,3%
18	45,6%	45%	0,6%
19	44,8%	43%	1,8%
20	39,1%	41%	1,9%
Viés médio			1,47%

*Hematócrito, **Analisador hematológico automatizado, ***Microhematócrito

Tabela 2. Resultados dos valores de HCT obtidos pela metodologia de microhematócrito e pelo analisador hematológico automatizado de 17 equinos, sua variância e o viés médio geral da espécie

Identificação, n°	HCT* (AHA**)	HCT* (MHCT***)	Variância
1	27,4%	29%	1,6%
2	29,8%	28%	1,8%
3	30,4%	29%	1,4%
4	25,8%	25%	0,8%
5	22,7%	22%	0,7%
6	26,8%	25%	1,8%
7	32,9%	30%	2,9%
8	27%	28%	1%
9	33,8%	31%	2,8%
10	23,7%	23%	0,7%
11	31,3%	30%	1,3%
12	23,6%	25%	1,4%
13	32,4%	31%	1,4%
14	29,5%	29%	0,5%
15	26,9%	27%	0,1%
16	34,9%	31%	3,9%
17	28,9%	30%	1,1%
Viés Médio			1,48%

*Hematócrito, **Analisador hematológico automatizado, ***Microhematócrito

Observou-se que das 37 análises comparativas entre os valores de HCT obtidos pelos métodos manual e automatizado, cinco destas variâncias modificaram a classificação hematológica dos pacientes em relação a presença de anemias, considerando intervalos de referência descritos por [Brooks, et al. \(2022\)](#) para caninos, entre 39-54%, e para equinos, entre 32-52%. Desta forma, verificou-se que o método automatizado apresenta acurácia relativa satisfatória em ambas as espécies, porém o viés médio e a incidência de variação na classificação hematológica para espécie equina foram maiores.

Discussão

O hemograma consiste em um exame complementar que utiliza tanto aspectos quantitativos quanto morfológicos das células sanguíneas para auxiliar no diagnóstico de patologias ([Grotto, 2009](#)), sendo um dos constituintes fundamentais da base de dados dos pacientes na medicina humana e na veterinária ([DeNicola, 2011](#)). Dentre os índices hematimétricos, o HCT, ou volume globular, corresponde a porcentagem de hemácias presentes no sangue total ([Thrall et al., 2022](#)) e é empregado na classificação da severidade de anemias ([Brooks, et al., 2022](#)).

A contagem celular por microscopia é o método manual para contagem de células sanguíneas mais antigo, caracterizado por maior consumo de tempo, maior variabilidade de resultados, menor custo em equipamentos e que necessita melhor capacitação do patologista. O microhematócrito é uma metodologia de contagem celular manual invariável e de alta acurácia, necessitando de equipamentos pouco dispendiosos e permitindo a visualização da aparência do plasma nos tubos de microhematócrito, ou seja, tornando possível a suspeita prévia de icterícia, lipemia e hemólise ([Rebar et al., 2001](#)). Uma sequência de procedimentos é empregada para realização deste método, incluindo: preenchimento de 70% de tubo de microhematócrito por capilaridade com amostra sanguínea homogeneizada em tubo de EDTA, selamento de uma das extremidades do tubo capilar, compactação das hemácias em centrífuga de microhematócrito e determinação do valor de hematócrito por cartão de leitura para microhematócrito ([Weiss & Wardrop, 2010](#)).

O primeiro analisador hematológico automatizado foi desenvolvido em 1968 pelos irmãos Wallace H. Coulter e Joseph R. Coulter Jr., denominado “*The Seven-parameter Coulter Counter*®” ([Graham, 2003](#)). Este equipamento utilizava o princípio de Coulter, isto é, a ideia de passar células por uma abertura contendo um detector ([Graham, 2003](#)). Atualmente, este princípio é empregado nos analisadores hematológicos automatizados por impedância, na qual a amostra é diluída em uma solução eletrolítica e é aspirada pela pequena abertura por dois eletrodos. Quando as células passam pela abertura, ocorre uma variação na voltagem entre os eletrodos que é traduzida pelo sistema de acordo com o tamanho das células, gerando assim a contagem ([Rebar et al., 2001](#)). Outras tecnologias empregadas nos modelos atuais de analisadores incluem a análise quantitativa de creme leucocitário e a

citometria de fluxo (DeNicola, 2011). De acordo com Koplitz et al. (2001), a análise quantitativa de creme leucocitário consiste na diferenciação da densidade dos diferentes elementos figurados do sangue através da centrifugação de amostras contendo anticoagulante, como por exemplo as plaquetas que por apresentarem menor densidade, ocupam a região sobrenadante do creme leucocitário. Já a citometria de fluxo corresponde a passagem de microgotas de amostra sanguínea por um feixe de laser, de forma que as células sanguíneas absorvem e dispersam o laser criando uma assinatura específica dependendo do seu tamanho, configuração nuclear e inclusões citoplasmáticas. Esta tecnologia é o método de contagem celular automatizada de maior acurácia, sendo considerada como “padrão-ouro” na hematologia automatizada (Rebar et al., 2001).

Apesar do constante avanço, os analisadores hematológicos automatizados também estão sujeitos a erros analíticos, de forma que se compreendeu a importância da gestão de qualidade e validação destes equipamentos anteriormente ao uso (Brooks, et al., 2022). Em vista desta situação, em 1996 a *American Society for Veterinary Clinical Pathology* (ASVCP) formou a *Quality Assurance and Laboratory Standards* (QAS), um comitê responsável pela gestão de qualidade dos laboratórios veterinários e desenvolvimento de *guidelines* dos procedimentos laboratoriais (Flatland et al., 2010). Técnicas de controle de qualidade, sejam estatísticas ou não estatísticas, devem ser implementadas em todos os procedimentos laboratoriais a fim de minimizar os erros analíticos (Brooks, et al., 2022). De acordo com DeNicola, (2011), a técnica de microhematócrito pode ser utilizada para avaliação periódica da performance dos analisadores hematológicos automatizados.

Conclusão

De acordo com os dados observados, foi constatado que o Analisador Hematológico de 3 partes VH20 da GENNET apresentou acurácia satisfatória na obtenção de valor de hematócrito quando comparado ao método manual de microhematócrito. Porém, observou-se que na espécie equina tanto o viés médio quanto a variabilidade na classificação de anemias foram mais presentes em relação à espécie canina. Dessa forma, é possível concluir que a análise hematológica automatizada é de grande valia na rotina laboratorial veterinária uma vez que os controles de qualidade e a validação periódica sejam implementados.

Referências bibliográficas

- Amaral, J. B., & Trevisan, G. (2018). Relação homem-animal durante procedimento clínico cirúrgico e pós-operatório em bezerro Holandês Preto e Branco acometido por atresia anal: Relato de caso. *PUBVET*, 12(3), 1–9. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n3a59.1-9>.
- Athanasiou, L. V., Polizopoulou, Z., Kalafati, M. R., Ntararas, G., & Kontos, V. (2016). Effects of pre-analytical handling on selected canine hematological parameters evaluated by automatic analyzer. *Veterinary Research Forum*, 7(4), 281–285.
- Brooks, M. B., Harr, K. E., Seelig, D. M., Wardrop, K. J. & Weiss, D. J. (2022). *Schalm's Veterinary Hematology* (7th ed.). John Wiley & Sons Inc, Medford, MA, USA.
- Chaves, C. D. (2010). Controle de qualidade no laboratório de análises clínicas. In *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* (Vol. 46, Issue 5). <https://doi.org/10.31512/persp.v.47.n.177.2023.318>.
- DeNicola, D. B. (2011). Advances in hematology analyzers. In *Topics in Companion Animal Medicine* (Vol. 26, Issue 2). <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.02.001>.
- Ferreira, S. A., & Sampaio, I. B. M. (2010). Relação homem-animal e bem-estar do cão domiciliado. *Archives of Veterinary Science*, 15(1), 22–35.
- Flatland, B., Freeman, K. P., Friedrichs, K. R., Vap, L. M., Getzy, K. M., Evans, E. W., & Harr, K. E. (2010). ASVCP quality assurance guidelines: Control of general analytical factors in veterinary laboratories. *Veterinary Clinical Pathology*, 39(3). <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2010.00251.x>.
- Goyena, R., & Fallis, A. G. (2016). Hematologia laboratorial: Teoria e procedimentos. *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).

- Graham, M. D. (2003). The Coulter Principle: Foundation of an industry. *JALA - Journal of the Association for Laboratory Automation*, 8(6). <https://doi.org/10.1016/s1535-5535-03-00023-6>
- Grotto, H. Z. W. (2009). O hemograma: Importância para a interpretação da biópsia. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 31(3). <https://doi.org/10.1590/S1516-84842009005000045>.
- Kopplitz, S. L., Scott, M. A., & Cohn, L. A. (2001). Effects of platelet clumping on platelet concentrations measured by use of impedance or buffy coat analysis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(11). <https://doi.org/10.2460/javma.2001.219.1552>.
- Lee, N. Y. (2019). Reduction of pre-analytical errors in the clinical laboratory at the University Hospital of Korea through quality improvement activities. *Clinical Biochemistry*, 70. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2019.05.016>.
- Leonart, M. S. S. (2010). Controle de qualidade na preservação de eritrócitos para transfusão. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 32(3). <https://doi.org/10.1590/s1516-84842010000300003>.
- McCulloch, W. F. (1985). The veterinarian's education about the human-animal bond and animal-facilitated therapy. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 15(2), 423–429. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(85\)50314-9](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(85)50314-9).
- Naoum, P. C. (2001). Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial. In *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* (Vol. 23, Issue 2). <https://doi.org/10.1590/s1516-84842001000200010>.
- Paes, P. R. O., Leme, F. O. P., & Carneiro, R. A. (2009). Hematologia dos animais domésticos. *FEPMVZ, Caderno Didático*.
- Rebar, A. H., MacWilliams, P. S., Feldman, B. F., Metzger, F. L., Pollock, R. V. H., & Roche, R. (2001). Laboratory methods in hematology. In A. H. Rebar, P. S. MacWilliams, B. F. Feldman, F. L. Metzger, R. V. H. Pollock, & j Roche (Eds.), *A guide to hematology in dogs and cats*.
- Reis, B. M. E. S., & Fonseca, L. S. (2024). A padronização das técnicas hematológicas no laboratório veterinário no aprendizado discente. *Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar*, 10(32), 105–117. <https://doi.org/10.21920/recci,v10i32.5849>.
- Silva, J. P. B., Navegantes, K. C., Pereira, G. C. B., Chiba, J. M. C., Dias, R. G. C., & Percário, S. (2014). Avaliação do impacto de laboratórios de análises clínicas de hospitais de urgência e emergência do município de Belém-PA na saúde. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 35(1).
- Tatibana, L. S., & Costa-Val, A. P. (2009). Relação homem-animal de companhia e o papel do médico veterinário. *Revista Veterinária e Zootecnia Em Minas*, 1, 12–19.
- Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2022). *Veterinary hematology, clinical chemistry, and cytology*. John Wiley & Sons.
- Weiss, D. J., & Wardrop, J. K. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology*.
- Young, M. S. (1985). The evolution of domestic pets and companion animals. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 15(2), 297–309. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(85\)50302-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(85)50302-2).

Histórico do artigo:**Recebido:** 12 de agosto de 2024**Aprovado:** 10 de setembro de 2024**Licenciamento:** Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.