



Parâmetros hematológicos de *Rattus norvegicus* obtidos através de método automatizado e não automatizado

(Hematological parameters of *rattus norvegicus* gotten through automatized and not automatized method)

"Artigo Científico/Scientific Article"

JB Messias^{A(*)}, MCM Caraciolo^B, IM Oliveira^C, UR Montarroyos^D, MO Guerra^E, IA Souza^F

^AInstituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco, Rua Arnóbio Marques, 310, Santo Amaro, 52210-220, Recife, PE, Brasil.

^BCentro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fiocruz, Av. Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, 50670-420, Recife, PE, Brasil.

^CCentro Acadêmico da Vitória de Santo Antão, Rua do Alto do Reservatório, s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil.

^DFaculdade Maurício de Nassau, Rua Fernando Lopes, 778 Graças, 52011-220, Recife, PE, Brasil.

^ECentro de Biologia da Reprodução, Universidade Federal de Juiz de Fora, C.P. 328, 36001-970, Juiz de Fora, MG, Brasil.

^FDepartamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brasil.

Resumo

Foram realizadas contagens das variáveis hematológicas de 12 ratas Wistar, *Rattus norvegicus* var. *albinus*, pesando 170 ± 20 mg para investigação diagnóstica, utilizando-se para a determinação automatizada o analisador hematológico Sysmex XT-1800i (Roche[®]) e para a metodologia não automatizada a câmara de Neubauer para a contagem total de eritrócitos e de leucócitos, com diluição em pipetas de Thomas. A determinação do hematócrito foi obtida utilizando-se uma centrífuga de microhematócrito, a concentração de hemoglobina foi determinada pelo método de cianometahemoglobina, e os índices hematimétricos foram calculados utilizando-se os resultados das variáveis do eritrograma. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em extensões de sangue sem anticoagulante, coradas com panótico rápido. Para a determinação do número de plaquetas foi utilizado o método de Fônio. A comparação estatística entre os métodos demonstrou que as variáveis estudadas não apresentaram diferenças significativas para eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM, leucócitos, neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, e monócitos, sendo os valores obtidos para as plaquetas o único que apresentou diferença significativa. A análise estatística permitiu concluir que o método automatizado para avaliação do hemograma de rato mostrou-se confiável e rápido. O método automatizado foi considerado o mais correto para plaquetas, de acordo com os resultados obtidos. Ainda para essa variável sugere-se uma comparação através de outras metodologias.

Palavras-chave: hematologia, hemograma, rato, hemocitômetro, automação.

Abstract

It was carried out on 12 Wistar rats, *Rattus norvegicus* to var. *albinus*, weighing 170 ± 20 mg, the counting of the hematological variables, for diagnostic enquiry. It was used a hematology analyzer Sysmex XT-1800i (Roche[®]) for the automatized determination and for the non automatized methodology, the Neubauer chamber for the counting of erythrocytes and leukocyte using a dilution in a Thomas pipette. The determination of the hematocrit was achieved using a microhematocrit centrifugal machine, the hemoglobin concentration was determined by the cianometahemoglobin method and the determination of the absolute hematimetric indexes was been calculated using the results determined in the red series. The differential counting of leukocytes was carried out through extensions of blood without anticoagulant, stained, with fast panotic. For the determination of the number of platelet the Fonio method was used. The study carried

(*) Autor para correspondência/Corresponding author (jb_messias@ibest.com.br).

(§) Recebido 02/12/2008 e aceito em 15/06/2009.

through in this work, which aimed to show the comparison between the automatized and non automatized methodologies, did not presented significant differences in the number of erythrocytes, hematimetric indexes (MCV, MCH, MCHC), hemoglobin, leukocytes, neutrophils, eosinophils, lymphocytes and monocytes, the only significant difference in values was of the platelet. According to the results obtained, the automatized method was considered the most accurate for the platelets. And still for this variable, it is suggested a comparison with other methodologies.

Key-words: *hematology, hemogram, rat, hemocytometer, automation.*

Introdução

A hematologia clínica é uma importante área de estudo sobre o estado de saúde dos animais, tendo o hemograma como um dos métodos de avaliação de diagnóstico e prognóstico de enfermidades (SWENSON, 1988; JAIN, 1993). O hemograma é um dos exames complementares de diagnóstico, por permitir uma quantificação dos elementos celulares do sangue. É constituído pelo eritrograma, leucograma e contagem de plaquetas (DESCAT, 2002; FAILACE, 2003).

O hemograma pode ser realizado utilizando-se métodos não automatizados, método do hemocitômetro, e também, por meio de equipamentos automatizados - com ampla variação tecnológica eletrônica associada à informática. Várias publicações científicas comparando as metodologias não automatizada e automatizada demonstram que os resultados obtidos não apresentam diferenças estatisticamente significantes (MORESCO et al., 2003; FAILACE e PRANKE, 2004; LEITE et al., 2007; MATANA et al., 2008; BORGES e SIQUEIRA, 2009; MACKELLY, 2009). Assim, a tendência é a substituição gradual pelos equipamentos automatizados (NAOUM, 2008).

O eritrograma ou hematimetria, de acordo com Failace (2003), é a parte do hemograma que avalia o eritron, e que compreende a massa eritróide circulante - reticulócitos e eritrócitos maduros - além do mielograma. A hematimetria é uma avaliação quantitativa da massa de eritrócitos e hemoglobina no sangue circulante, que fornece informações sobre a morfologia dos eritrócitos. Ela é composta pela: contagem de hemácias (Hm) - expressa em $Hm \times 10^6/mm^3$; dosagem de hemoglobina (Hb) - expressa em

gramas/ decilitros (g/dL); determinação do hematócrito (Ht) - expresso em porcentagem (%); determinação do volume corpuscular médio (VCM) - expresso em fentolitros (fL); determinação da hemoglobina corpuscular média (HCM) - expressa em picograma (pg); concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) - expressa em porcentagem (%) e amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW - *Red blood cell Distribution Width*) fornecidos nas determinações automáticas.

Através do leucograma pode-se analisar as células responsáveis pela defesa do organismo e, portanto, avaliar a capacidade de resposta destas células frente a diferentes situações. É composto pelas contagens total de leucócitos (CTL) e diferencial de leucócitos (CDL). A contagem diferencial de cada leucócito (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos) é emitida em (a) porcentagem (%) na contagem relativa e número de leucócitos/ mm^3 , na contagem absoluta, e (b) pela avaliação da morfologia das mesmas no estiramento sanguíneo (DESCAT, 2002).

Segundo Santos e Meirelles Filho (2004), as plaquetas são analisadas quantitativamente, sendo expressas em $PLT \times 10^3/mm^3$, e que através de contadores automatizados é possível obter: a amplitude de distribuição das plaquetas (PDW) - expressa em fentolitro (fL), o volume médio das plaquetas (VMP) - expresso em fentolitro (fL), e a razão de células grandes de plaquetas (RCGP) - expresso em percentual (%).

Ressalta-se que o hemograma deve também abranger as análises qualitativas dos eritrócitos, dos leucócitos e das plaquetas, principalmente as que consideram o tamanho e a forma celular, a coloração e as inclusões citoplasmáticas e nucleares, e as atipias celulares (NAOUM, 2008).

Os contadores de células sanguíneas modernos apresentam alto nível de precisão. Porém de acordo com Silva et al. (2007) é importante considerar a variação entre os instrumentos. Os tipos de contadores automáticos mais utilizados nos laboratórios de hematologia são os contadores eletrônicos por impedância e os contadores a laser.

Atualmente, há um crescente aumento na utilização de analisadores hematológicos automáticos para determinação do perfil hematológico em animais de laboratório, permitindo uma redução do trabalho manual e aumento da exatidão da contagem. Os diversos artigos disponibilizados em várias bases de pesquisas (ADEBAYO et al., 2005; ARAÚJO et al., 2005; AL SAHHAF, 2006; GONÇALVES et al., 2006; LIMA et al., 2008) mostram que é prática comum o uso desses contadores para a determinação do hemograma em animais, porém a grande maioria corresponde a equipamentos padronizados para sangue humano e não para animais de laboratório.

Recentemente foi lançado na Índia o Sysmex XT-1800i V e XT-2000i V (modalidade veterinária) em parceria com o Transasia Bio-Medicals, que consiste em contadores hematológicos inteiramente automatizados para testar e analisar sangue animal com alta qualidade (INDIAPRWIRE, 2008). Assim, é perceptível que na literatura vigente apesar do crescente uso dessa tecnologia, a necessidade de uma metodologia que forneça os valores hematológicos de forma rápida e precisa aliada à informação que a justifique e a valide. E neste contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os parâmetros hematológicos de *Rattus norvegicus* através de métodos automatizado e não automatizado.

Material e Métodos

Foram utilizadas 12 (doze) ratas Wistar, *Rattus norvegicus* var. *albinus* pesando 170 ± 20 mg, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos, da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais receberam água e dieta (Labina[®]) *ad*

libitum e foram mantidos sob condições controladas de iluminação (ciclo 12h claro/escuro) e temperatura ($23 \pm 2^\circ\text{C}$). O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal Pernambuco (Processo n°23076.018858/2007-27).

As ratas, após jejum prévio de 12 horas, foram anestesiadas conforme Ferro (2007), com Cloridrato de Ketamina 85mg/Kg (Vetbrands[®]) e Cloridrato de Xilazina 3 mg/mL (Vetbrands[®]) administrados por via intramuscular (I.M.) e imobilizados. Em seguida foi realizada a coleta de sangue por punção cardíaca. O sangue foi acondicionado em tubo com anticoagulante HB (Laborlab[®]) para determinação dos parâmetros hematológicos.

Para a determinação automatizada foi utilizado o analisador hematológico Sysmex XT-1800i (Roche[®]), seguindo as recomendações do fabricante. Através desse equipamento é possível obter os seguintes parâmetros: contagem total de hemácias, hematócrito, hemoglobina, índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM), amplitude de distribuição dos eritrócitos - RDW; contagem total de leucócitos, contagem relativa e absoluta de leucócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos) além da contagem de plaquetas.

De acordo com Santos e Monteiro (2008), o Sysmex XT-1800i utiliza impedância elétrica e citometria de fluxo para a contagem de células, a determinação de VCM e a determinação do hematócrito, além de utilizar a espectrofotometria para a dosagem de hemoglobina (método Lauril Sulfato de Sódio). O valor de HCM é derivado da divisão do valor de hemoglobina e da contagem de eritrócitos, assim como o valor de CHCM é derivado da divisão da hemoglobina e do hematócrito.

Para determinação do número de hemácias e leucócitos, foi utilizado o hemocítmetro (câmara de Neubauer), com diluição em pipetas de Thomas. O líquido de Hayen (Newprov[®]) foi utilizado como diluente para contagem de eritrócitos,

enquanto o líquido de Türk (Newprov[®]) para a contagem dos leucócitos (MADELLA et al., 2006).

A determinação do hematócrito foi obtida utilizando-se uma centrífuga de microhematócrito (Fanem modelo 210 IEC[®]) e a leitura feita em cartão apropriado do mesmo fabricante, de acordo com Mello (2005). A concentração de hemoglobina foi determinada pelo método de cianometahemoglobina, empregando-se o líquido de Drabkin (Doles[®]) e a leitura realizada em espectrofotômetro (Espectrophotometer digital UV-VIS, Coleman 395-D[®]). Os índices hematimétricos absolutos foram calculados utilizando-se os resultados determinados na série vermelha, conforme Birgel (1982) e Mello (2005).

A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em extensões de sangue sem anticoagulante coradas com panótico rápido (Newprov[®]) e observadas ao microscópio (Leica Galen III[®]). Em cada ensaio, 100 células foram analisadas e contadas.

Para a determinação do número de plaquetas utilizou-se o método indireto (Fonio), realizado através de estiramento sanguíneo desprovido de anticoagulante, e que consistiu na contagem de 10 campos

microscópicos, do qual se contaram as hemácias e as plaquetas, totalizando, assim, mil hemácias. A contagem foi realizada seguindo linhas longitudinais em relação à lâmina. E foi feita uma regra de três simples para a obtenção do número total de plaquetas (BAIN, 2004; LEITE et al., 2007).

Através do programa estatístico STATA versão 9.0 com 95% de intervalo de confiança, foi realizada uma avaliação comparativa entre o método convencional e o automatizado. As análises estatísticas foram realizadas através do Teste T de Student pareado, observando-se a média da diferença no número de células encontradas entre as contagens diferenciadas realizadas pelo autor e o aparelho.

Resultados e discussão

A comparação entre as médias, os desvios-padrões e os intervalos de confiança das variáveis hematológicas obtidas pelos métodos automatizado e não automatizado, através do teste t de Student está demonstrada na Tabela 1.

Todos os parâmetros, com exceção das plaquetas ($p < 0,05$, $n = 12$), não apresentaram diferenças significativas em

Tabela 1 - Comparação entre as médias, os desvios-padrões e os intervalos de confiança das variáveis hematológicas de ratas obtidas pelos métodos automatizado e não automatizado, através do teste t de Student.

Variável Hematológica	N	Automatizado			Não - Automatizado			Teste t - Student
		Média	Desvio padrão	Intervalo confiança (95%)	Média	Desvio padrão	Intervalo confiança (95%)	
Eritrócitos ($10^6/\text{mm}^3$)	12	5,87	0,33	5,7 - 6,1	5,79	0,33	5,6 - 6,0	0,4788
Hemoglobina (g/dL)	12	11,60	0,50	11,3 - 11,9	11,59	0,88	11,0 - 12,2	0,9407
Hematócrito (%)	12	37,46	2,06	36,1 - 38,8	36,83	2,92	35,0 - 38,7	0,4454
VCM (fl)	12	63,78	2,02	62,5 - 65,1	63,38	5,13	60,1 - 66,6	0,8034
HCM (pg)	12	20,61	2,90	18,8 - 22,5	20,08	1,47	19,1 - 21,0	0,5454
CHCM (%)	12	31,10	1,05	30,4 - 31,8	31,60	2,65	29,9 - 33,3	0,5253
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	12	4,60	1,60	3,6 - 5,6	4,50	1,30	3,7 - 5,3	0,7220
Neutrófilos (%)	12	30,17	6,52	26,0 - 34,3	31,08	7,97	26,0 - 36,1	0,7276
Eosinófilos (%)	12	0,58	0,52	0,2 - 0,9	0,25	0,62	0 - 0,6	0,1661
Linfócitos (%)	12	63,9	6,96	59,5 - 68,3	65,83	8,70	60,3 - 71,4	0,3261
Monócitos (%)	12	5,16	4,82	2,1 - 8,2	2,83	2,16	1,5 - 4,2	0,1823
Plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$)	12	6,78	1,0	6,1 - 7,4	5,68	1,74	4,6 - 6,8	0,0107*

*Estatisticamente diferente (Teste t – Student, $p < 0,05$).

relação às metodologias empregadas neste trabalho.

Apesar dos resultados deste trabalho, para monócitos serem não significativos (Tabela 1) ressalta-se que há na literatura relatos de divergências na contagem diferencial de leucócitos mais especificamente em relação aos monócitos, entre as metodologias automatizadas e não automatizadas (NASCIMENTO, 2002). Os resultados mostraram-se conflitantes na contagem relativa de monócitos, os quais apresentaram valores de 14 e 15 células pelo método automatizado, enquanto pela metodologia não automatizada, os valores obtidos foram de 1 e zero células, respectivamente. Quando comparados aos valores dos parâmetros hematológicos da literatura percebe-se que para monócitos não há variação entre os valores apresentados por Harkness e Wagner (1993) e Cubas et al (2007), e corroboram com os achados neste trabalho em relação à metodologia não-automatizada. Por isso, acredita-se que a divergência entre as duas metodologias utilizadas para estes dois exames especificamente, seja pelo fato de a quantidade de células contadas pela metodologia automática ser em torno de 20.000 células diferente do que é contado pela metodologia não automatizada que é entre 100 a 200 células. Ainda na contagem automatizada para leucócitos, as células são diferenciadas por coloração, agrupadas e contadas através da passagem das células por uma micro-abertura gerando a emissão de pulsos elétricos com posterior correção para a diluição utilizada. Enquanto na metodologia não automatizada, a contagem é efetuada em estiraço sanguíneo em lâmina, sem anticoagulante, onde eventualmente existe uma distribuição irregular, por causa das diferenças de tamanhos, gravidades específicas, aderências entre os diversos tipos de leucócitos em que a maioria dos neutrófilos e monócitos se concentram nas margens e na cauda do estiraço, o que levaria a erros de artefato de técnica (NASCIMENTO, 2002).

Os valores encontrados neste trabalho para os basófilos, apesar de não estar representados na Tabela 1, são compatíveis com os parâmetros da literatura. Isto é, das 12 amostras em apenas duas ratas, pelo método automatizado, apresentaram um único basófilo respectivamente, enquanto no restante das amostras o valor foi zero. E quando este parâmetro, para estas mesmas amostras, foi realizado pelo método não automatizado, o valor encontrado foi zero, isto é, para este parâmetro não houve diferenças significantes. Os basófilos, para ratos são, aparentemente, raros ou poucos; sendo esta escassez circulante uma característica para a classe dos mamíferos, de uma forma geral. O que, mais uma vez corrobora com os nossos achados dessa pesquisa.

Em relação à contagem de plaquetas, os valores encontrados neste trabalho tanto na metodologia automatizada quanto na não automatizada (Tabela 1), apesar de serem compatíveis com os parâmetros da literatura cerca de 500 a 13000 plaquetas para Harkness e Wagner (1993) e de 450 a 8850 plaquetas para Cubas et al. (2007), mostraram-se divergentes significativamente. Provavelmente essa diferença tenha ocorrido devido ao método Fonio ser um exame laboratorial manual, no qual não são obtidos valores exatos e sim uma estimativa desses fragmentos celulares, uma vez que utiliza a comparação de número de plaquetas com o número de eritrócitos por campo (LEITE et al., 2007), e que de acordo com Coelho (1981), amostras contadas pelo método Fonio estão sujeitas a interferências como a má distribuição por campos focalizados. Diferente do que ocorre com os contadores automáticos cuja contagem das plaquetas é feita por sistemas ópticos e/ou de variação de impedância aumentando a precisão e minimizando o fator de erro em situações extremas, permitindo ainda avaliar as variações na forma e no tamanho das plaquetas, além de detectar a presença de agregados (MICHELSON, 1996; HARRISON e MACHIN, 2000), contudo, vale salientar

que existe uma tendência de todos os analisadores automáticos em superestimar a contagem de plaquetas, resultando em pouca sensibilidade a níveis abaixo do limite de normalidade (SEGAL et al., 2005).

Apesar de ser um método moroso, pouco preciso e que está sujeito a erros subjetivos dependentes do pessoal técnico, o método indireto, utilizado nesse trabalho para a contagem de plaquetas ainda é bastante útil na rotina hematológica (ENGLAND et al., 1988; PUJOL-MOIX, 2002) e de acordo com Tvedten (1993), Corrons e Bascompte (2006) e Veiga et al. (2007) é um método relevante nos casos de trombocitopenias, na presença de macroplaquetas e nos casos em que há tendência de agregação plaquetária, podendo inclusive influenciar significativamente nas contagens realizadas através de métodos automáticos. Além disso, não se deve esquecer que o método oficial de referência para a contagem plaquetária pelo Comitê Internacional para Padronização em Hematologia (ICSH) ainda é um método não automatizado, que consiste na diluição do sangue total com diluente específico e lise dos eritrócitos contados em hemocítmetro (TASKER et al., 2001; CORRONS e BASCOMPTE, 2006).

Conclusão

Os resultados obtidos nessa pesquisa permitem concluir que apesar do aparelho utilizado nesse trabalho não ser indicado para roedores, a contagem das células sanguíneas pelo método automatizado do sangue de ratos mostrou-se confiável e rápida.

Diante das diferenças encontradas para as plaquetas recomenda-se reavaliar a sua contagem através de uma metodologia não automatizada mais segura, como por exemplo, o método direto com a utilização do hemocítmetro.

Agradecimentos

Ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Pernambuco (ICB/UPE) representado pelos Prof. Francisco Montenegro de Melo, Profa. Rosana Anita da

Silva Fonseca e a técnica Marilene Pessoa de Souza, pela colaboração na realização deste trabalho.

Referências

- ADEBAYO, J.O. et al. Effect of ethanolic extract of *Bougainvillea spectabilis* leaves on haematological and serum lipid variables in rats. **Biokemistri Journal**, v.17, n.1, p.45-50, 2005.
- AL SAHHAF, Z.Y. Toxicity of sumithion in albino rats: hematological and biochemical studies. **Journal of Applied Oral Science**, v.6, n.14, p.2959-2962, 2006.
- ARAÚJO, E.J.A. et al. Hematologic and biochemical parameters of rats subjected to hypoproteic and hiper-caloric diet. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v.8, n.2, p.139-146, 2005.
- BAIN, B.J. **Células sanguíneas: um guia prático**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 437p.
- BIRGEL, E.H. Hematologia clínica veterinária. In: BIRGEL, E.H.; BENESI, F.J. **Patologia clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 2-34.
- BORGES, L.; SIQUEIRA, L.O. Validação de tecnologia 5 diff do analisador hematológico Sysmex XS-1000i para laboratório de pequeno/médio porte. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.24, p.247-251, 2009.
- COELHO, E. **Técnicas de estudo da coagulação**. 3. ed. São Paulo, Santos, 1981.
- CORRONS, J.L.V.; BASCOMPTE, J.L.A. **Manual de técnicas de laboratorio en Hematología**. Espanha: Elsevier, 2006. p.95-97.
- CUBAS, Z.S. et al. **Tratado de animais selvagens medicina veterinária**. São Paulo: Editora Roca, 2007, 1354p.
- DESCAT, F. **Hematologie du rat: hemogramme et myelogramme**. 2002 105p. Tese - Ecole Nationale Veterinaire, Toulouse, France.
- ENGLAND, J.M. et al. Recommended methods for the visual determination of white cells and platelet counts. **World Health Organ LAB**, v.3, p.1, 1988.
- FAILACE, R. **Hemograma: manual de interpretação**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. 298p.

- FAILACE, R.; PRANKE, P. Avaliação dos critérios de liberação direta dos resultados de hemogramas através de contadores eletrônicos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.26, n.3, p.159-166, 2004.
- FERRO, M.M. **Caracterização neuroquímica e comportamental da lesão da via nigroestriatal com 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (mptp) e 6-hidroxidopamina (6-ohda) em ratos**. 2007. 66p. Tese. (Doutorado em Ciência Bioquímica) – Programa de Pós-graduação em Ciências - Bioquímica, Universidade Federal do Paraná.
- GONÇALVES, E.S. et al. Avaliação toxicológica crônica do extrato hidroalcoólico de *Operculina alata* (Ham.) Urban sobre os parâmetros bioquímicos e hematológicos em ratos Wistar. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.26, n.3, p.369-374, 2007.
- HARKNESS, S.E.; WAGNER, J.E. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. 3. ed. São Paulo: Livraria Roca, 1993. 238p.
- HARRISON, P.; MACHIN, S. Immunoplatelet counting: a proposed new reference procedure. **British Journal of Haematology**, v.108, p.228-235, 2000.
- INDIAPRWIRE. **Sysmex & Transasia introduce XT 1800i V & XT-2000i V to help contract clinical research sector**, Mumbai, 16 set. 2008. Disponível em: <<http://www.indiaprwire.com/pdf/pressrelease/2008091613094.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2008.
- JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 407p.
- LEITE, L.A.C. et al. Comparação entre a contagem de plaquetas pelos métodos manual e automatizado. **NewsLab**, v.81, p.106-114, 2007.
- LIMA, et al. Efeito da colestase nos aspectos funcionais e morfológicos renais após nefrectomia. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.54, n.6, p.513-516, 2008.
- MACKELLY, S. **Estudo comparativo de métodos de contagem de reticulócitos para controle de qualidade**. 2009 116p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
- MADELLA, D.A. et al. Valores hematológicos de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) Rodentia: Hydrochoeridae de vida livre na região de Campinas – SP. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1321-1324, 2006.
- MATANA, S.R. et al. **Avaliação da contagem automatizada de plaquetas como um dos critérios de qualidade de hemocomponentes em banco de sangue**. Informativo científico da Roche diagnóstica, São Paulo, ano 1, n.5, 2008.
- MELLO, M.H. **N-acetilcisteína e dapsona: avaliação da toxicidade hematológica e bioquímica em ratos Wistar**. 2005. 103p. Dissertação (Mestrado em Toxicologia). Programa de Pós-graduação em Toxicologia, Universidade de São Paulo.
- MICHELSON, A.D. Flow Citometry: a clinical test of platelet function. **Blood**, v.87, n.12, p.4925-4936, 1996.
- MORESCO, R.N. et al. Análise comparativa das técnicas manual e automatizada (ADVIA tm 120) para contagem de reticulócitos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.35, n.1, p.17-18, 2003.
- NAOUM, P.C. **Academia de ciência e tecnologia**. Disponível em: <<http://www.ciencianews.com.br/cien-news/inter-lab-hemo.htm>>. Acesso em: 10 out. 2008.
- NASCIMENTO, M.L.P. **Monócitos: os resultados da automação e amostras hospitalares**. Labor News, Indianapolis, n.118, p.24, 2002.
- PUJOL-MOIX, N. **Valoración de las plaquetas sanguíneas por métodos convencionales**. In: ____ *Thrombocytopenia*, 2. ed. Espana: Elsevier, 2002, p.10-107p.
- SANTOS, E.V.; MEIRELLES FILHO, J. Plaquetograma em gestantes normais e com pré-eclâmpsia. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.26, n.3, p.201-206, 2004.
- SANTOS, T.P.S.; MONTEIRO, L. Frequência das anemias microcíticas e hipocrômicas no laboratório central do Hospital Oswaldo Cruz – Recife, PE. **NewsLab**, v.87, p.78-84, 2008.
- SEGAL, H.C. et al. Accuracy of platelet counting haematology analysers in severe thrombocytopenia and potential impact on platelet transfusion. **British Journal of Haematology**, v.128, n.4,

p.520-525, 2005.

SILVA, P.F.N. et al. Correlação entre o hemocítômetro e outras técnicas de rotina para a contagem do número de plaquetas em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (H.V.-UEL). **Semina: Ciências Agrárias**, v.28, n.4, p.659-664, 2007.

SWENSON, M.J. **Propriedades fisiológicas e constituintes celulares e químicos do sangue**. In: _____. Fisiologia dos animais domésticos. 10. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988, p.13-25.

TASKER, S. et al. Evaluation of methods of platelet counting in the cat. **Journal of Small**

Animal Practice, v.42, n.7, p.326-332, 2001.

TVEDTEN, H. Advanced hematology analyzers interpretation of results. **Veterinary Clinical Pathology**, v.22, n.3, p.72-80, 1993.

VEIGA, R.K.A. et al. Comparação entre os métodos manual e automatizado de contagem de plaquetas. In: Congresso Brasileiro de Patologia Clínica Medicina Laboratorial – Exposição técnico científico, set. 2007, Salvador. Congresso... Disponível em <http://www.nkb.com.br/sbpc2007/SBPC_PE_comparacao%20entre%20metodos%20contagem%20plaquetas.pdf>. Acesso em: 15 set. 2008.