UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

DETERMINAÇÃO DA ACURÁCIA DO ANALISADOR HEMATOLÓGICO COBAS B 121 PARA VALORES DE HEMATÓCRITO DE CÃES, GATOS E EQUINOS EM COMPARAÇÃO AO PADRÃO OURO LABORATORIAL

PORTO ALEGRE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

DETERMINAÇÃO DA ACURÁCIA DO ANALISADOR HEMATOLÓGICO COBAS B 121 PARA VALORES DE HEMATÓCRITO DE CÃES, GATOS E EQUINOS EM COMPARAÇÃO AO PADRÃO OURO LABORATORIAL

Autora: Pâmela Dallarosa Braga

Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para a obtenção da graduação em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Raposo

Monteiro

PORTO ALEGRE

2022/1

Pâmela Dallarosa Braga

DETERMINAÇÃO DA ACURÁCIA DO ANALISADOR HEMATOLÓGICO COBAS B 121 PARA VALORES DE HEMATÓCRITO DE CÃES, GATOS E EQUINOS EM COMPARAÇÃO AO PADRÃO OURO LABORATORIAL

COMPRETE TO TO TRIBITIO OCKO EMBORITI	
Aprovado em:	
APROVADO POR:	
Prof. Dr. Eduardo Raposo Monteiro	
Orientador e Presidente da Comissão	
Prof. ^a Dra. Stella de Faria Valle	
Membro da Comissão	
Dra. Luciana Branquinho Queiroga	
Membro da Comissão	

AGRADECIMENTOS

Agradeço minha mãe, Márcia Regina Dallarosa, por ser fonte inesgotável de força e coragem que me inspira. Sendo a responsável por ensinar-me a não desistir em meio às dificuldades do caminho. Obrigada por toda a dedicação, todo o apoio e por sonhar este sonho junto comigo.

Agradeço também meus padrinhos, Vera e Sergio Dallarosa, por terem me acolhido em suas vidas, por terem participado de forma tão especial da formação de quem eu sou, e por todo o apoio e amor que generosamente oferecerem-me. Sem vocês nada disso seria possível.

Agradeço aos demais familiares que de alguma forma colaboraram para o meu crescimento. Especialmente, minha tia Naida Dallarosa, por todo o apoio durante a graduação e pelas palavras de incentivo que sempre me deram força.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Raposo Monteiro, mestre pelo qual tenho profundo respeito e admiração. Obrigada por cada oportunidade dentro da anestesiologia veterinária e por toda a orientação, paciência e suporte durante a elaboração desse projeto.

Deixo meu agradecimento ao setor de Anestesiologia Veterinária da UFRGS e aos residentes, técnicos e pós-graduandos, que ao compartilharem seus conhecimentos, contribuíram ativamente para minha formação profissional. Também agradeço a Prof.ª Dra. Stella de Faria Valle e ao Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias LACVET – UFRGS, por todo o suporte e auxílio na execução desse projeto.

Por fim, agradeço aos meus amigos, por oferecerem apoio e incentivo durante todos esses anos e por tornarem essa jornada mais leve.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi determinar a concordância entre os valores de volume globular (VG) obtidos através de microcentrifugação e os valores de hematócrito (Hct) obtidos pelo hemogasômetro Cobas b 121 em cães, gatos e cavalos. Amostras de sangue venoso ou arterial foram coletadas utilizando seringas pré-heparinizadas específicas para hemogasometria. Após a coleta, todas as amostras foram analisadas imediatamente e os valores foram determinados pelo método de microhematócrito e pelo hemogasômetro. O teste de Bland Altman foi utilizado para determinação do viés e limites de concordância. A correlação de Person foi determinada e o Teste t utilizado para comparar as médias de VG e Hct. Foram incluídos no estudo 45 cães, 45 gatos e 33 cavalos. As médias ± DP (mínimomáximo) dos valores de VG obtidos pelo microhematócrito e Hct determinados pelo analisador foram: cães, $34.9 \pm 9.9 \ (9.0-55.0) \%$ e $32.5 \pm 8.8 \ (10.4-50.6) \%$; gatos, 29.0 ± 9.6 (11,0-51,0) % e 26.9 ± 9.3 (10,2-50.9) %; cavalos, 34.2 ± 6.5 (24,0-47.0) % e 34.1 ± 6.0 (22,5-46,1) %. Não houve diferença significativa entre os valores obtidos pelos dois métodos. Os valores de viés \pm DP de cada espécie foram: cães, 2,4 \pm 2,6%; gatos, 2,2 \pm 2,3%; cavalos, 0,1 ± 2,4%. O viés encontrado foi positivo na maior parte das análises, indicando que o analisador subestimou o Hct. Houve correlação muito forte entre os valores mensurados pelos dois métodos. Os valores do coeficiente de correlação (r) foram: cães, 0,97; gatos, 0,98; cavalos 0,93 (P < 0,0001). Frente aos resultados, conclui-se que o analisador hematológico apresenta boa acurácia na determinação do Hct de cães, gatos e cavalos nas faixas de hematócrito incluídas nesse estudo.

Palavras-chave: analisador hematológico; hemogasometria; hemogasômetro; volume globular.

ABSTRACT

The aim of the present study was to determine the agreement between the packed cell volume (PCV) values obtained through microcentrifugation and the hematocrit (Hct) values obtained by the Cobas b 121 blood gas analyzer in dogs, cats and horses. Venous or arterial blood samples were collected using pre-heparinized syringes specific for blood gas analysis. After collection, samples were analyzed immediately and values were determined by the microhematocrit method and the blood gas analyzer. The Bland Altman method was used to determine the bias and limits of agreement. Person's correlation was determined and the t test was used to compare the means of VG and Hct. A total of 45 dogs, 45 cats and 33 horses were included in the study. The means \pm SD (minimum-maximum) of VG values obtained by microhematocrit and Hct determined by the analyzer were: dogs, $34.9 \pm 9.9 (9.0-55.0)$ % and $32.5 \pm 8.8 \ (10.4-50.6) \ \%$; cats, $29.0 \pm 9.6 \ (11.0-51.0) \ \%$ and $26.9 \pm 9.3 \ (10.2-50.9) \ \%$; horses, 34.2 ± 6.5 (24.0-47.0) % and 34.1 ± 6.0 (22.5-46.1) %. There was no significant difference between the values obtained by the two methods. The bias \pm SD values for each species were: dogs, $2.4 \pm 2.6\%$; cats, $2.2 \pm 2.3\%$; horses, $0.1 \pm 2.4\%$. The bias was positive in most analyses, indicating that the Cobas analyzer underestimated Hct. There was a very strong correlation between Hct values measured by the two methods. Pearson's correlation coefficients (r) were: dogs, 0.97; cats, 0.98; horses 0.93 (P < 0.0001). In view of the results, it is concluded that the Cobas b 121 blood gas analyzer demonstrates good accuracy in determining the Hct of dogs, cats and horses in the range of Hct values included in this study.

Key words: blood gas analysis; blood gas analyzer; hematology analyzer; packed cell volume.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	MATERIAIS E MÉTODOS	. 10
2.1	Animais	. 10
2.2	Coletas sanguíneas	. 10
2.3	Análise das amostras sanguíneas	. 11
2.4	Classificação do grau de anemia	. 12
	Análise estatística	
3	RESULTADOS	. 13
4	DISCUSSÃO	. 18
5	CONCLUSÃO	. 20
	REFERÊNCIAS	. 21

1 INTRODUÇÃO

O hemograma é um dos exames complementares mais empregados na rotina clínica veterinária, sendo um recurso valioso na avaliação da condição de saúde do paciente. Na sua composição, mais especificamente no eritrograma, encontramos os valores de volume globular e hemoglobina, que estão associados ao transporte de oxigênio no sangue. O volume globular (VG), também chamado de hematócrito (Hct), corresponde à porcentagem do sangue total composta pelos eritrócitos (THRALL *et al.*, 2015). Alterações no valor de VG auxiliam na detecção de distúrbios como: perda sanguínea; fenômenos de hemodiluição e hemoconcentração; anemias; policitemias, entre outros (HOPFER *et al.*, 2004).

Em vista disso, para determinar o valor de VG, o método de microhematócrito é amplamente utilizado pelos laboratórios. Esse método é reconhecido como o padrão ouro por ser confiável, econômico e necessitar um mínimo volume de sangue para sua realização (MÁRQUEZ; CHACÓN-CARDONA, 2016). Entretanto, através do microhematócrito obtemos somente o valor de VG e de proteínas plasmáticas. Já alguns dos analisadores de gases sanguíneos modernos, além do Hct, também fornecem informações sobre o equilíbrio ácido-base e eletrólitos em poucos minutos. Portanto, a inclusão desses analisadores na rotina clínica pode oferecer vantagens pela praticidade e rapidez das análises, principalmente para pacientes emergenciais, para os quais preconizam-se exames hematológicos de resultados rápidos e que, ao mesmo tempo, forneçam o máximo de informações sobre o estado de saúde do paciente. Sendo assim, analisadores automatizados, que já são usufruídos pela medicina humana, estão cada vez mais frequentes também na medicina veterinária. Porém, as células sanguíneas de diferentes espécies de animais possuem morfologia e estabilidade variáveis, o que pode interferir nos resultados das análises (ROLEFF *et al.*, 2007).

O hemogasômetro utilizado nas análises do presente estudo, faz parte da gama de analisadores disponíveis no mercado e tem sido utilizado na rotina clínica veterinária para determinação de valores de gases sanguíneos, eletrólitos e Hct. Porém, na literatura consultada, não foram encontrados dados relacionados a acurácia do analisador na determinação do hematócrito em animais domésticos. Pesquisas sobre a acurácia do analisador são importantes para garantir a exatidão das análises sanguíneas, pois ela pode ser variável entre equipamentos, espécies e entre os diferentes níveis de anemia. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo determinar a concordância entre os valores de volume globular obtidos por microcentrifugação e os valores de hematócrito mensurados pelo hemogasômetro Cobas b 121 em cães, gatos e cavalos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais

O estudo foi iniciado após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA-UFRGS (protocolo 40507). Foram incluídos no estudo cães, gatos e equinos provenientes da rotina clínica do HCV-UFRGS, que necessitavam de exame de gasometria solicitado pelo anestesista ou clínico responsável.

2.2 Coletas sanguíneas

As coletas sanguíneas foram realizadas através de punção venosa ou arterial de vasos periféricos (figura 1) ou da veia jugular. Também, em alguns casos, a coleta ocorreu através de um cateter venoso ou arterial previamente introduzido e fixado. A coleta por punção foi realizada utilizando agulha hipodérmica calibre 13 x 4 mm ou 25 x 7 mm e seringas específicas para hemogasometria de 1 mL, que continham heparina de lítio balanceada (modelo A-Line da marca BD). Seguindo as instruções do fabricante das seringas, foram coletados 0,6 mL de sangue de cada paciente e as amostras foram homogeneizadas suavemente para evitar a hemólise e a formação de coágulos. No caso de coletas utilizando cateter previamente fixado, o procedimento consistiu em acoplar uma seringa comum ao cateter, descartar 1 ml de sangue, e só depois coletar a amostra definitiva com a seringa para hemogasometria. Esse passo é importante para evitar erros de mensuração por diluição da amostra.

Figura 1 – Coleta sanguínea por punção da artéria dorsal pedal em cão.

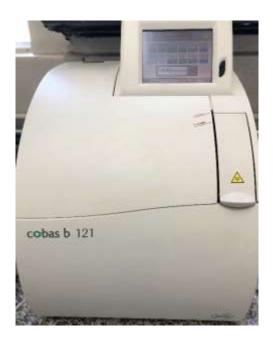


Fonte: o próprio autor (2022).

2.3 Análise das amostras sanguíneas

Todas as amostras foram analisadas imediatamente no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, onde os valores de Hct foram determinados primeiramente pelo analisador Cobas b 121 (Roche Diagnostics) (figura 2) e, após, o VG foi determinado pelo método de referência (microhematócrito). O microhematócrito foi realizado em até cinco minutos após a análise do hemogasômetro e a seringa foi homogeneizada cinco vezes por inversão antes de realizar a técnica. A técnica de microhematócrito foi realizada da seguinte forma: inicialmente o tubo capilar de microhematócrito (75 x 1,5 mm) foi preenchido com o sangue proveniente da mesma seringa utilizada no analisador Cobas. Para isso, o capilar foi segurado horizontalmente encostando sua extremidade no sangue da amostra, possibilitando o preenchimento de 70 a 90% da sua extensão. Após isso, uma das extremidades foi selada através de aquecimento em chama de fogo até que ficasse totalmente vedada. Em seguida, o capilar foi colocado na centrífuga de microhematócrito (Heraeus pico 17, Thermo Scientific) e centrifugados durante 5 minutos em 8.943 g. Por fim, utilizando um cartão de leitura para microhematócrito, o valor foi determinado posicionando-se o capilar com a base da coluna de eritrócitos na linha 0 e o topo da coluna de plasma na linha 100, obtendo-se o valor do VG na linha correspondente ao topo da coluna de eritrócitos (figura 3).

Figura 2 – Analisador Cobas b 121.



Fonte: o próprio autor (2022)

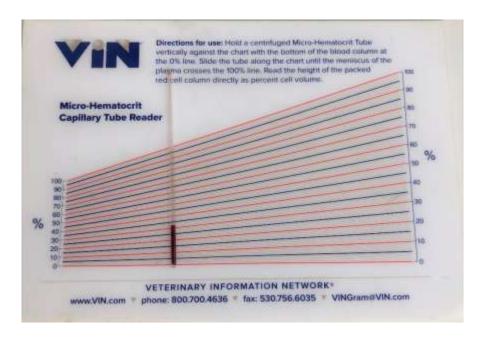


Figura 3 – Leitura do microhematócrito utilizando o cartão.

Fonte: o próprio autor (2022)

2.4 Classificação do grau de anemia

Para cada espécie, os animais foram classificados em anêmicos e não anêmicos com base no valor de volume globular obtido pelo método de microhematócrito. A faixa de normalidade do VG para esse estudo foi baseada nos intervalos de referência fornecidos pelo Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias - LACVet UFRGS. Cães, gatos e cavalos não anêmicos foram classificados com VG de 37 – 55%, 24 – 45% e 32 – 53%, respectivamente.

O grupo de animais anêmicos incluiu todos os graus de anemia (leve, moderada e grave). Nos cães, a anemia grave pode ser classificada por VG \leq 15 a 19% e a anemia leve a moderada, por VG de 20 a 36% (LEISEWITZ *et al.*, 2019). Em gatos, a anemia grave é classificada como VG \leq 14 - 17% (OLSON; HOHENHAUS, 2019) e a anemia moderada em VG de 18 - 23% (OTTENJANN *et al.*, 2006). Já em equinos, a anemia grave é classificada como VG \leq 13 a 19% e anemia leve a moderada VG de 20 a 33% (PADALINO *et al.*, 2016).

2.5 Análise estatística

A distribuição dos dados foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk. O teste de Bland Altman foi utilizado para determinação do viés, desvio padrão do viés e limites de concordância dos valores obtidos por microcentrifugação e pelo analisador. Sendo assim, valores de viés positivos caracterizam valores de Hct subestimados pelo método indireto (analisador), enquanto valores de viés negativos caracterizam valores de Hct superestimados pelo método indireto. A correlação entre os métodos foi determinada pelo método de correlação de Pearson. Os dados também foram submetidos ao Teste-t não pareado para comparar as médias obtidas entre os dois métodos. Para todas as análises, as diferenças foram consideradas significativas quando P < 0,05.

3 RESULTADOS

As análises de todos os 123 animais amostrados foram incluídas no estudo, totalizando 45 cães, 45 gatos e 33 cavalos, os quais possuíam raça, sexo, idade e peso variáveis. A média \pm DP para idade (anos) dos cães foi de 7,6 \pm 4,1. Para os gatos a média \pm DP para idade foi de 5,5 \pm 4,2, e para os cavalos foi de 10,8 \pm 8,7. A relação das raças dos animais incluídos no estudo está na tabela 1, onde observamos uma maior prevalência de animais sem raça definida (SRD) tanto para cães, quanto para gatos.

Considerando as médias dos valores obtidos através dos dois métodos, não houve diferença significativa entre os valores de VG obtidos por microcentrifugação e os valores de Hct mensurados pelo hemogasômetro. As médias (± DP) são apresentadas na tabela 2. O viés encontrado foi positivo na maior parte das análises, indicando que o analisador subestimou o Hct em até 3,8%. A única exceção ocorreu no grupo de cavalos anêmicos, no qual o viés foi de -1,3%. Além disso, houve correlação muito forte entre as variáveis em todas as faixas de Hct analisadas em todas as espécies (P < 0,0001). Os valores do viés (± DP), limites de concordância e coeficientes de correlação para cada grupo de animais encontram-se nas tabelas 3, 4 e 5. As representações gráficas obtidas através das análises de Bland Altman e correlações encontram-se na figura 4.

Tabela 1 – Relação das raças dos animais incluídos no estudo.

Grupo	Raças
Cães não anêmicos (n = 20)	SRD (n = 10), Outros* (n = 10)
Cães anêmicos (n = 25)	SRD $(n = 18)$, Outros $(n = 7)$
Gatos não anêmicos (n = 30)	SRD (n = 29), Persa (n = 1)
Gatos anêmicos (n = 15)	SRD $(n = 15)$
Cavalos não anêmicos (n = 19)	SRD (n = 5), Crioula (n = 7), PSI (n = 6), Pônei (n = 1)
Cavalos anêmicos (n = 14)	SRD (n = 10), Crioula (n = 3), Pônei (n = 1)

^{*} Representa as seguintes raças de cães: Maltês (n = 1), Pitbull (n = 2), Yorkshire (n = 2), Labrador (n = 1), Cocker (n = 1), Dachshund (n = 2), Chow-chow (n = 2), Shih-tzu (1), Poodle (n = 1), Rottweiler (n = 1), Pastor Alemão (n = 1), Pug (n = 1); PSI: Puro Sangue Inglês; SRD: sem raça definida.

Tabela 2 – Médias ± DP (mínimo-máximo) dos valores de VG obtidos por microcentrifugação e valores de Hct mensurados pelo hemogasômetro. Valor de P obtido através do Teste-t não pareado.

Espécie	Microhematócrito (%)	Hemogasômetro (%)	Valor de P
Cães (n = 45)	34,9 ± 9,9 (9,0-55,0)	32,5 ± 8,8 (10,4-50,6)	0,22
Gatos $(n = 45)$	$29,0 \pm 9,6 \ (11,0-51,0)$	$26.9 \pm 9.3 \ (10.2-50.9)$	0,28
Equinos $(n = 33)$	$34.2 \pm 6.5 \ (24.0-47.0)$	$34,1 \pm 6,0 \ (22,5-46,1)$	0,96

Tabela 3 - Valores do viés, desvios padrão do viés, limites de concordância e coeficientes de correlação para valores de VG obtidos por microcentrifugação em comparação aos valores de Hct mensurados pelo analisador em cães.

Variável	Não anêmicos	Anêmicos	Não anêmicos +
	(n = 20)	(n = 25)	anêmicos
Viés (%)	3,8	1,3	2,4
Desvio padrão do viés (%)	2,3	2,4	2,6
Limite de concordância 95%	-0,6 a 8,3	-3,4 a 6,1	-2,7 a 7,6
Coeficiente de correlação	0,86	0,96	0,97
Valor de <i>P</i>	(P < 0,0001)	(P < 0,0001)	(P < 0,0001)

Cães não anêmicos: VG entre 37 e 55%. Cães anêmicos: VG ≤ 36%.

Tabela 4 - Valores do viés, desvios padrão do viés, limites de concordância e coeficientes de correlação para valores de VG obtidos por microcentrifugação em comparação aos valores de Hct mensurados pelo analisador em gatos.

Variável	Não anêmicos	Anêmicos	Não anêmicos +
	(n = 30)	(n = 15)	anêmicos
Viés (%)	2,4	1,6	2,2
Desvio padrão do viés (%)	2,0	2,9	2,3
Limite de concordância 95%	-1,4 a 6,3	-4,1 a 7,3	-2,4 a 6,7
Coeficiente de correlação	0,96	0,73	0,98
Valor de P	(P < 0.0001)	(P < 0.002)	(P < 0,0001)

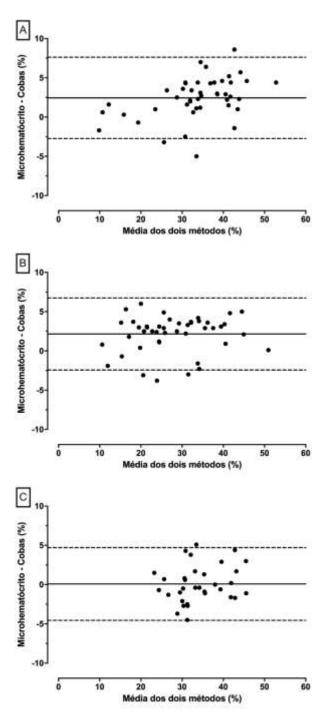
Gatos não anêmicos: VG entre 24 e 45%. Gatos anêmicos: VG ≤ 23%.

Tabela 5 - Valores do viés, desvios padrão do viés, limites de concordância e coeficientes de correlação para valores de VG obtidos por microcentrifugação em comparação aos valores de Hct mensurados pelo analisador em cavalos.

Variável	Não anêmicos	Anêmicos	Não anêmicos +
	(n = 19)	(n = 14)	anêmicos
Viés (%)	1,1	-1,3	0,1
Desvio padrão do viés (%)	2,2	1,8	2,4
Limite de concordância 95%	-3,3 a 5,5	-4,8 a 3,3	-4,6 a 4,7
Coeficiente de correlação	0,90	0,84	0,93
Valor de <i>P</i>	(P < 0,0001)	(P < 0,0002)	(P < 0,0001)

Cavalos não anêmicos: VG entre 32 e 53%. Cavalos anêmicos: VG ≤ 31%.

Figura 4 – Representação gráfica da análise pelo método Bland Altman. Cada ponto representa um par de mensurações do VG pelo método de microhematócrito e o Hct pelo analisador. A linha horizontal contínua representa o viés e as linhas pontilhadas representam os limites de concordância no nível de 95%. O eixo y corresponde ao erro individual de cada par, e o eixo x corresponde ao valor obtido a partir da média dos dois métodos (microhematócrito e analisador). O gráfico A representa os valores para os 45 cães, o B para os 45 gatos e o C para 33 cavalos.



Fonte: o próprio autor (2022)

4 DISCUSSÃO

Avaliando os resultados, é possível observar que o analisador apresentou viés positivo na maioria das categorias analisadas (viés máximo de até 3,8%). A única exceção ocorreu para cavalos anêmicos, no qual o viés foi de -1,3%. O viés positivo encontrado indica que o analisador subestimou o Hct nas três espécies de animais. Essas diferenças entre os valores obtidos pelos dois métodos também ocorreram em um estudo anterior, no qual o analisador CA530-VET subestimou o Hct de cães, gatos e equinos, quando comparado ao microhematócrito (ROLEFF et al., 2007). Os valores de Hct subestimados podem estar relacionados ao método de condutimetria, que é utilizado pelos analisadores para mensurar o Hct. A condutimetria pode sofrer interferência de elementos não condutores, como proteínas, lipídios e leucócitos, que ocupam certo volume na amostra e modificam o valor do hematócrito (DAURÈS et al., 2009). Também é importante ressaltar que analisadores desenvolvidos para pacientes humanos, como o do presente estudo, podem não funcionar com a mesma acurácia para animais, pois seu sistema de contagem e dimensionamento celular não se adapta perfeitamente ao tamanho variável dos eritrócitos em diferentes espécies, o que também poderia justificar o viés aqui encontrado (THRALL et al., 2015).

No presente estudo, o analisador apresentou valores de viés mais próximos de zero nas análises de cavalos (-1,3 a 1,1%) e valores ligeiramente maiores para cães (1,3 a 3,8%). Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo anterior, no qual houve melhor concordância entre os métodos nas amostras sanguíneas de equinos e o viés encontrado para cães foi aproximadamente duas vezes maior do que nas demais espécies. Os valores relatados no estudo em questão foram: 0.0074 ± 0.012 L/L para cavalos; 0.011 ± 0.016 L/L para gatos e 0,02 ± 0,018 L/L para cães (ROLEFF et al., 2007). Já em outro estudo, o analisador hematológico Sysmex F-800 superestimou o Hct de equinos em 2 a 5%, quando comparado ao microhematócrito. Esse viés foi considerado aceitável para um analisador semiautomático seguindo os preceitos do Comitê Internacional de Padronização em Hematologia (ICSH) (PASTOR et al.,1998). Essas diferenças de desempenho dos analisadores para cada espécie animal ainda não são bem esclarecidas na literatura, entretanto, podem estar relacionadas à osmolaridade, proteínas ou interferências lipídicas particulares de cada espécie (PEREZ-ECIJA et al., 2014). Novamente, é importante ressaltar que fatores como: orientação das hemácias em relação ao campo elétrico, mudanças nas concentrações de íons plasmáticos, de proteínas e de temperatura, podem influenciar diretamente na condutividade plasmática e alterar o valor de hematócrito (TRAUTMAN; NEWBOWER, 1983).

No presente estudo, a análise da concordância entre o Hct do analisador e o VG do microhematócrito foi realizada de forma separada para cada grupo de animais da seguinte forma: concordância para o grupo de animais não anêmicos; concordância para o grupo de animais anêmicos e concordância para ambos (anêmicos e não anêmicos juntos). Essa divisão foi utilizada para avaliar se a acurácia do analisador poderia mudar conforme a variação do Hct. Entretanto, os resultados encontrados revelaram que os valores de viés e desvio padrão foram baixos e semelhantes tanto nos grupos separados em anêmicos e não anêmicos, quanto no grupo contendo todos os indivíduos da espécie.

Outros fatores também podem ter impacto sobre o Hct, como o tempo de armazenamento das amostras e o tipo de anticoagulante utilizado nas seringas de coleta. Esse fenômeno foi relatado em um estudo anterior, no qual ocorreu um aumento de 18% no Hct de cães após as amostras terem sido armazenadas por 72 horas (GREBERT *et al.*, 2021). Essa tendência ascendente de valores de Hct conforme o período de armazenamento aumenta é atribuída ao provável inchaço das hemácias e agregação plaquetária que ocorre ao longo do tempo (PASTOR *et al.*,1998). Portanto, para evitar interferências nas mensurações, no presente estudo as amostras foram imediatamente analisadas após a coleta.

Além disso, a correta escolha do anticoagulante utilizado nas amostras sanguíneas é fundamental para evitar erros na mensuração. A heparinização excessiva das seringas de coleta, principalmente quando realizada de forma manual com heparina líquida de qualquer natureza (tanto heparina de cálcio quanto de lítio), pode prejudicar as análises (THRALL et al., 2015). As heparinas líquidas em excesso diluem a amostra e reduzem o Hct. Além disso, por serem soluções naturalmente ácidas equilibradas com o ar ambiente, em excesso, elas podem alterar os valores de pH, pCO2 e pO2 do sangue. Portanto, para evitar esses erros, é recomendada a utilização de seringas contendo heparina em jato seco (liofilizada) ao invés de heparina líquida (HIGGINS, C., 2007). Outro problema relacionado aos anticoagulantes da amostra, é a utilização de preparações convencionais de heparina, principalmente de sódio (mas também pode ocorrer com lítio). Heparinas convencionais possuem propriedades de ligação com o cálcio ionizado, causando uma falsa redução desse eletrólito na amostra (HIGGINS, C., 2007). É importante ressaltar que alterações de qualquer natureza nos eletrólitos plasmáticos podem interferir no método da condutimetria utilizado pelos analisadores. Portanto, para análises sanguíneas que envolvam eletrólitos é essencial a utilização de preparações de heparina específica, como a heparina contendo cálcio balanceado. No presente estudo, seguindo as recomendações do fabricante do analisador, todas as amostras foram coletadas com seringas específicas para gasometria contendo heparina de lítio com cálcio balanceado.

A validação de analisadores automáticos para diferentes espécies de animais pode ser desafiadora. De acordo com o Conselho Internacional de Padronização em Hematologia ICSH (BRIGGS, C. et al., 2014) a validação do equipamento deve ser realizada pelo fabricante ou por outro centro de excelência. O presente estudo não teve por objetivo validar o analisador na mensuração do hematócrito, mas sim, avaliar a sua concordância com o padrão ouro. Sendo assim, o estudo objetivou avaliar se o Hct mensurado conjuntamente aos demais parâmetros de hemogasometria pode ser utilizado como uma variável adicional na tomada de decisões clínicas. Entre as limitações do estudo, podemos destacar o baixo número de amostras sanguíneas de pacientes com anemia grave. Um estudo com um número maior dessas amostras pode revelar resultados diferentes para essa faixa de hematócrito. Outra limitação foi o menor número de equinos em comparação às outras duas espécies.

5 CONCLUSÃO

O hemogasômetro Cobas b 121 apresentou boa acurácia na determinação do hematócrito de cães, gatos e cavalos em todas as faixas de hematócrito incluídas nesse estudo. Os valores do viés encontrados foram baixos, mas podem ser considerados clinicamente relevantes em algumas situações. A inclusão do analisador na rotina hospitalar para fornecimento de valores de hematócrito conjuntamente com gasometria e eletrólitos é útil, pois fornece resultados confiáveis de forma rápida e prática.

REFERÊNCIAS

BRIGGS, C. *et al.* ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. **International Council for Standardization in Haematology. International Journal of Laboratory Hematology.** V. 36, n. 6, p. 613-627, 2014.

DAURÈS, M. F. *et al.* Mesure de l'hématocrite: comparaison de la conductimétrie à la microcentrifugation. **Annales de Biologi e Clinique**, Paris, v. 67, n. 1, p. 67-72, 2009.

GREBERT, M. *et al.* Validation of the Sysmex XN-V hematology analyzer for canine specimens. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 50, p. 184-197, 2021.

HIGGINS, C. The use of heparin in preparing samples for blood-gas analysis. **MLO MED Lab Obs,** v. 39, n. 10, p. 8-16, 2007.

HOPFER, S. M. *et al.* Effect of protein on hemoglobin and hematocrit assays with a conductivity-based point-of-care testing device: comparison with optical methods. **Ann Clin Lab Sci,** v. 34, n. 1, p. 75-82, 2004.

LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS VETERINÁRIAS (LACVET). **Intervalos de Referência.** Disponível em: https://www.ufrgs.br/lacvet/servicos/tabela-de-referencias/. Acesso em: 15 ago. 2021.

LEISEWITZ, A. L. *et al.* A clinical and pathological description of 320 cases of naturally acquired *Babesia rossi* infection in dogs. **Veterinary Parasitology**, Onderstepoort, South Africa, v. 271, n.1, p. 22-30, 2019.

MÁRQUEZ, Martha C.; CHACÓN-CARDONA, José A. Determination of VSG: comparison of methods and microhaematocrit Wintrobe. **Revista de Salud Pública**, Bogotá, v. 18, n. 6, p. 946-952, 2016.

OLSON, Sarah Winzelberg; HOHENHAUS, Ann E. Feline Non-Regenerative Anemia: Diagnostic and treatment recomendations. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, Connecticut, New York, USA, v. 21, n.7, p. 615-631, 2019.

OTTENJANN, M. *et al.* Characterization of the Anemia of Inflamatory Disease in Cats with Abscesses, Pyothorax, or Fat Necrosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Colorado, USA, v. 20, n. 5, p. 1143-1150, 2006.

PADALINO, B. *et al.* A New Classification to Diagnose Type of Anemia in Standardbred Horses: A Retrospective Study. **Journal of Equine Veterinary Science**, Bari, Italy, v. 44, n. 1, p. 21-25, 2016.

PASTOR, J. *et al.* Evaluation of a Haematological Analyser (Sysmex F-800) with Equine Blood. **Journal of Veterinary Medicine Series A,** Wissenschafts-Vetlag, Berlin, v. 45, p. 119-126, 1998.

PEREZ-ECIJA, A. *et al.* Comparison of donkey hemogram using the LaserCyte hematology analyzer, an impedance system, and a manual method. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 43, n. 4, p. 525-537, 2014.

ROLEFF, S. *et al.* Clinical evaluation of the CA530-VET hematology analyzer for use in veterinary practice. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 2, p. 155-166, 2007.

THRALL, M. A. *et al.* **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2015. p. 21-186.

TRAUTMAN, Edwin, D; NEWBOWER, Ronald, S. A Practical Analysis of the Electrical Conductivity of Blood. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering,** v. 30, n. 3, p. 141-154, 1983.