

Avaliação da contagem plaquetária pelo contador automático QBC Vet Autoread® comparado com estimativa em esfregaço sanguíneo e contagem em hemocítômetro

Evaluation of platelet count by automatic blood counter QBC Vet Autoread® compared with blood smear estimative and count by hemocytometer

Augusto Schweigert^{1*}; Fábio Hosoi Rezende²;
Denise Tabacchi Fantoni³; Ludmila Rodrigues Moroz⁴

Resumo

A contagem plaquetária na rotina laboratorial fornece ao clínico importantes informações sobre a hemostasia do paciente. Há várias técnicas descritas, entretanto a técnica padrão realizada em hemocítômetro demanda muito tempo, inviabilizando sua realização em rotinas volumosas. Este estudo visou avaliar se o aparelho automatizado veterinário QBC Vet Autoread, cujo resultado leva cerca de cinco minutos, é capaz de fornecer o número de plaquetas de forma confiável. Para tal, avaliou-se a correlação entre três diferentes formas de determinação do número de plaquetas em cão: a contagem pelo contador de células automático QBC Vet Autoread®, estimativa em esfregaço sanguíneo corado e o método padrão considerado prova ouro de contagem manual em hemocítômetro. Determinou-se também a viabilidade e confiabilidade do uso da contagem automática na rotina laboratorial da medicina veterinária. Foram avaliados 17 cães, escolhidos de forma aleatória de acordo com a rotina de colheita do Banco de sangue e rotina da clínica médica e cirúrgica do HOVET – USP. As análises revelaram alta correlação entre a contagem em hemocítômetro comparados a estimativa em esfregaço sanguíneo ($r=0,875$) e entre a contagem em hemocítômetro e a contagem automática do QBC Vet Autoread® ($r=0,939$). Conclui-se a contagem plaquetária pelo QBC Vet Autoread®, além de rápida, é mais confiável quando comparada com a estimativa em esfregaço sanguíneo, apesar deste último também possuir alta correlação. Entretanto, a análise morfológica através do esfregaço sanguíneo não pode ser descartada, pois nenhuma das outras duas técnicas avaliadas tem capacidade de avaliar alterações morfológicas plaquetárias.

Palavras-chave: Contagem de plaquetas, caninos, hemocítômetro, estimativa em esfregaço sanguíneo, QBC Vet Autoread®

¹ Médico veterinário formado pela Faculdade Integrado de Campo Mourão, Residência em Anatomia Patológica pela Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE. Mestrando em Ciência Animal pela UNESP/FO, Campus Araçatuba. E-mail: augusto.schweigert@gmail.com

² Médico veterinário autônomo formado pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. E-mail: fabiopx@yahoo.com.br

³ Professora Associada do Departamento de Cirurgia, VCI da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, responsável pelo setor de Anestesia do HOVET-USP. E-mail: dfantoni@usp.br

⁴ Médica Veterinária formada pela Universidade Estadual de Londrina, Mestre pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Docente da Universidade Metropolitana de Santos. E-mail: ludymoroz@ig.com.br

* Autor para correspondência

Abstract

The platelet blood count in laboratorial routine provides to the clinician important information about the hemostasis of the patient. There are many techniques described, however the gold standard techniques realized in hemocytometer spent a lot of time, making this technique impracticable in great routines. This research had the intent to evaluate if the automatic veterinary blood counter QBC Vet Autoread®, whose results get five minutes to be ready, is capable to offer a trustworthy platelet count number. To this end, were evaluated the correlations among three different forms of platelets count in dogs: count in automatic blood counter QBC Vet Autoread®, estimative in blood smear and the gold standard method by manual count in hemocytometer. The viability and confidence use of automatic blood counters of the medicine veterinary routine. Seventeen dogs were chosen randomly way, in the medical and surgical routine of HOVET-USP. The analysis reveal high correlation between the hemocytometer and the estimative in blood smear ($r=0,875$) and between the hemocytometer and automatic blood count by QBC Vet Autoread® ($r=0,939$). Conclude that the platelet blood count by QBC Vet Autoread®, in addition to be fast, it's more truthful when compared with estimative in blood smear, although the latter one also had elevated correlation. However, morphological analysis through the smears cannot be dismissed because none of the other two techniques evaluated have the ability to assess platelet morphological changes.

Key words: Count of platelets, canine, hemocytometer, blood smear estimative, QBC Vet Autoread®

Introdução

As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos anucleados presentes no sangue e produzidos a partir de megacariócitos na medula óssea. Os megacariócitos dão origem às plaquetas através da liberação de fragmentos citoplasmáticos pelos seus grandes pseudópodes, que entram em contato com os sinusóides das células endoteliais, liberando-as na corrente sanguínea através do estímulo da trombopoetina (ITALIANO; HARTWIG, 2002).

São observadas na corrente sanguínea como pequenas estruturas circulares com aproximadamente um terço do tamanho das hemácias. Estas possuem forma oval quando inativas e são capazes de se aderirem aos vasos sanguíneos e capilares quando há lesão e exposição de colágeno da membrana basal e estroma. A formação do tampão plaquetário é fundamental para a hemostasia por interromper o fluxo de sangue para fora do vaso, segundos após a lesão inicial. Sua função primária é a manutenção da hemostasia através de interações celulares que envolvem a adesão, liberação e agregação plaquetária. Estes eventos ocorrem simultaneamente ou independentes, dependendo da lesão envolvida (NELSON; COUTO, 2006; LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

A diminuição no número absoluto (trombocitopenia) ou de sua função (trombocitopatia) causa distúrbios hemostáticos capazes de provocar hemorragias, onde os principais sinais são: petéquias, equimoses, sufusões, sangramentos gastrintestinais e urinários. Em cães, valores plaquetários abaixo de 200.000/ μ l podem ser caracterizados como trombocitopenia, sendo que valores abaixo de 50.000/ μ l podem facilmente ser visualizados por sangramentos espontâneos. (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

A contagem plaquetária faz parte da rotina veterinária por auxiliar o clínico em seus diagnóstico e tratamentos. Há necessidade de formas de contagem que sejam ao mesmo tempo práticas e fiéis aos valores sanguíneos circulantes. Poucas são as formas de contagem automática com alta correlação com o método padrão de contagem manual, através do hemocitômetro (TVEDTEN, 1993).

Devido a isto a contagem das plaquetas deve ser rotineira em casos de suspeita de alterações hemostáticas, principalmente em casos críticos com trombocitopenia. Além disso, a contagem deve ser confiável, sendo que a maioria dos contadores hematológicos automáticos possui baixa correlação quando comparados ao método padrão em pacientes trombocitopênicos (TVEDTEN, 1993; OLIVEIRA et al., 2003).

O teste oficializado pelo Comitê Internacional para Padronização em Hematologia para determinação do número de plaquetas é através da diluição do sangue total e lise das hemácias com contagem em hemocitômetro (câmara de Neubauer) (TASKER; CRIPPS; MACKIN, 2001). No entanto, a contagem em hemocitômetro requer considerável experiência por parte dos técnicos (LASSEN; WEISNER, 2007), sem contar que o tempo necessário para leitura de cada amostra inviabilizaria a rotina de grandes laboratórios, pois, em média, é necessário cerca de 30 minutos entre recebimento do material no laboratório e contagem das plaquetas. Em virtude desta limitação do teste, novos métodos são estudados a fim de otimizar a rotina laboratorial, sem perder a confiança no teste.

A leitura do esfregaço sangüíneo é uma das técnicas utilizadas na rotina veterinária, mas esta técnica mostra apenas uma estimativa do valor circulante sangüíneo. Através da coloração das lâminas (Panótico, Giensa, Wright, entre outros) é possível diferenciar as plaquetas das células sangüíneas. A contagem é feita em aumento de 100 vezes. A média do número de plaquetas que existem em cinco campos é multiplicada por uma constante de 15 ou 20 mil unidades, resultando no número estimado de plaquetas. A análise morfológica plaquetária é fundamental para determinar alterações, como plaquetas gigantes ou formações de aglomerados. A estimativa em esfregaço é uma técnica rápida e barata, cuja funcionalidade auxilia na calibração de aparelhos automatizados (TASKER; CRIPPS; MACKIN, 2001). As desvantagens incluem a necessidade de esfregaços sangüíneos padronizados, a baixa correlação entre o método padrão (SILVA et al., 2007) e a necessidade de esfregaços feitos num curto espaço de tempo entre colheita e leitura.

O QBC Vet Autoread®⁵ é baseado no princípio de que por diferentes densidades as células sangüíneas

se organizam, por centrifugação, em camadas bem definidas no tubo. No interior do tubo existe um revestimento de acrodina laranja, um corante fluorescente, que é absorvido pelas diversas células em intensidades diferentes, e abaixo da luz emitem fluorescência. As plaquetas emitem fluorescência amarelo pálido, o que permite a leitura destas neste sistema. Para a mensuração das plaquetas neste sistema, os tubos foram preenchidos com a amostra, centrifugados e inseridos no sistema para a leitura no sistema óptico segundo orientações do fabricante (IDEXX LABORATORIES, 2002).

A contagem plaquetária faz parte do hemograma e proporciona informações importantes ao clínico. As variações nas contagens podem ocorrer por problemas na colheita (muita pressão ou demora no acondicionamento ou colheita traumática) como por alterações patológicas dos animais (BAKER, 2007). Portanto, uma contagem fidedigna é uma busca na medicina em geral. Desta forma o objetivo do presente estudo foi avaliar a viabilidade e confiabilidade na determinação do número de plaquetas em cães através de um método automatizado e da estimativa em esfregaço sangüíneo, comparando-os com o método padrão por contagem em hemocitômetro.

Material e Métodos

Foram realizadas no Banco de Sangue do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo HOVET – FMVZ – USP três formas diferentes de contagem plaquetária. As plaquetas foram contadas pelas técnicas de estimativa em lâmina de esfregaço sangüíneo, pelo aparelho QBC Vet Autoread® Hematology System⁶ e comparadas com a técnica do hemocitômetro (câmara de Neubauer). As contagens foram realizadas por três pesquisadores, sendo que cada técnica foi realizada por um único

⁵ QBC Vet Autoread, Idexx Laboratories INC, Westbrook, Maine, USA. Representante no Brasil, importador e distribuidor: Bio Brasil Comércio de produtos Veterinários LTDA.

⁶ QBC Vetautoreder, Idexx Laboratories INC, Westbrook, Maine, USA. Representante no Brasil, importador e distribuidor: Bio Brasil Comércio de produtos Veterinários LTDA.

pesquisador, e nenhum destes teve acesso aos dados alheios até o término do experimento. Terminado o estudo, os valores obtidos foram analisados por estatística descritiva e foi determinado o coeficiente de correlação de Pearson para as amostras. Para a comparação entre as diferentes técnicas empregou-se ANOVA para medidas repetidas seguida do teste de Tukey. A análise estatística foi realizada em programa operacional InStat 3, com nível de significância de 95%.

A contagem de plaquetas foi realizada em 17 cães, de diferentes raças, adultos, sem distinção de sexo, cujos exames foram enviados ao Banco de Sangue do HOVET-USP. As amostras foram colhidas em tubos com anticoagulante etilenodiamino-tetraacetato (EDTA). A fim de evitar alterações relacionadas ao EDTA, as amostras sanguíneas foram separadas imediatamente para cada pesquisador da seguinte forma: o esfregaço sanguíneo foi realizado imediatamente pós-coleta, seguido de fixação em álcool metílico; uma alíquota de sangue era encaminhada para diluição; o restante do sangue era analisado no contador automático. A diluição e análise em aparelho ocorreram em, no máximo, 20 minutos.

Para a contagem no hemocítmetro foi utilizada a câmara de Neubauer. Em 10 μ L de sangue recém coletado (até 20 minutos pós-coleta) foram acrescentados 2ml do diluidor de Brecher [Oxalato de Amônio (1 g), azul de metileno 1% (2gotas) em água destilada q.s.p. (100mL)] e homogeneizado por 5 minutos. Os dois compartimentos da câmara foram preenchidos. O hemocítmetro foi deixado em ambiente úmido durante 20 minutos, acondicionando-o em uma placa de Petri contendo papel absorvente umedecido. A iluminação do microscópio óptico foi reduzida para um maior contraste e visualização das plaquetas, e estas foram facilmente diferenciadas de debris celulares. Cinco campos de cada compartimento foram contados, semelhante ao método utilizado para contagem de hemácias, sendo o resultado multiplicado por 2.500, obtendo-se o número de plaquetas/ μ L (JAIN, 1986).

Para a estimativa em esfregaço sanguíneo confeccionou-se a lâmina de sangue recém coletado, corando-a pelo Panótico rápido (Diff-Quick). A lâmina foi visualizada na objetiva de imersão (100x) e a contagem foi realizada em um local da lâmina de distribuição homogênea de células. Foram contados 15 campos aleatórios, e a média dos resultados foi multiplicada pelo valor 15.000, obtendo-se o valor de plaquetas por μ L (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

A contagem plaquetária pelo QBC foi realizada utilizando os tubos de hemograma⁷ segundo especificações do fabricante. Foram determinados também os valores de sensibilidade e especificidade para os testes utilizados.

Resultados e Discussão

Não houve diferença estatística significativa entre os resultados obtidos pelas três diferentes técnicas. Ao avaliar a correspondência eficaz entre as amostras, determinou-se que o valor de P é <0,0001, considerado extremamente significativo, indicando que a correspondência parece ser eficaz.

Na contagem realizada através da metodologia do hemocítmetro (câmara de Neubauer) 14 animais apresentaram contagem dentro dos valores de normalidade. Já na estimativa em esfregaço 11 estavam normais e pelo QBC Vet Autoread® 12 animais apresentaram-se normais (Tabela 1; Figura 1).

A técnica de contagem plaquetária pelo hemocítmetro (câmara de Neubauer) é considerada a metodologia ideal para determinação do número de plaquetas pelo Comitê Internacional para Padronização em Hematologia, porém esta técnica exige experiência do técnico responsável pela contagem, além do tempo necessário para a realização do exame, cerca de 30 minutos. Esta metodologia

⁷ QBC Vet tubes, Idexx Laboratories INC, Westbrook, Maine, USA. Representante no Brasil, importador e distribuidor: Bio Brasil Comércio de produtos Veterinários LTDA.

utiliza solução de oxalato de amônio para lise de hemácias, após isto preenche – se a câmara e se aguarda de 20 a 25 minutos para a sedimentação plaquetária na câmara e mais 5 a 10 minutos para a contagem das mesmas. Este longo tempo pode inviabilizar a utilização do hemocitômetro para contagem de plaquetas em rotinas laboratoriais intensas (LASSEN; WEISNER, 2007).

Com relação aos animais com trombocitopenia o esfregaço sanguíneo foi o método mais sensível, com cinco animais trombocitopenicos, quando comparado ao QBC Vet Autoread® com quatro animais (Tabela 2). No entanto, apenas dois destes

cães possuíam contagem plaquetária abaixo dos valores de normalidade na determinação pelo hemocitômetro, o que revela que na estimativa em esfregaço sanguíneo três animais e no QBC dois animais foram falsos positivos para trombocitopenia. Estes valores podem estar relacionados com a presença de pequenos agregados plaquetários que não serão contados corretamente em esfregaço ou que podem interferir no volume plaquetário no tubo do contador automático. Tais alterações poderão ser corrigidas no hemocitômetro (OLSEN et al., 2004). Nos três tipos de contagem encontrou-se o mesmo animal trombocitose.

Tabela 1. Contagem de plaquetas (/ μ L) em 17 cães, obtidos pela contagem em hemocitômetro, estimativa em esfregaço sanguíneo e pelo método automatizado do aparelho QBC Vet Autoread®, Laboratório de Anestesiologia da FMVZ-USP, São Paulo.

Animal	QBC Vet Autoread	Esfregaço sanguíneo	Hemocitômetro
1.	200.000	141.000	219.000
2.	230.000	177.000	281.000
3.	231.250	129.000	112.000
4.	297.500	289.500	320.000
5.	250.000	249.000	190.000
6.	292.500	168.000	173.000
7.	232.500	216.000	202.000
8.	367.500	350.000	328.000
9.	1.100.000	936.000	950.000
10.	455.000	237.000	463.000
11.	287.000	303.000	289.000
12.	230.000	246.000	302.000
13.	377.500	294.000	383.000
14.	325.000	350.000	423.000
15.	118.750	303.000	258.000
16.	112.500	180.000	98.000
17.	237.500	426.000	265.000
Médias	314.382	293.794	309.176
Desvio padrão	220,145	184,204	192,817

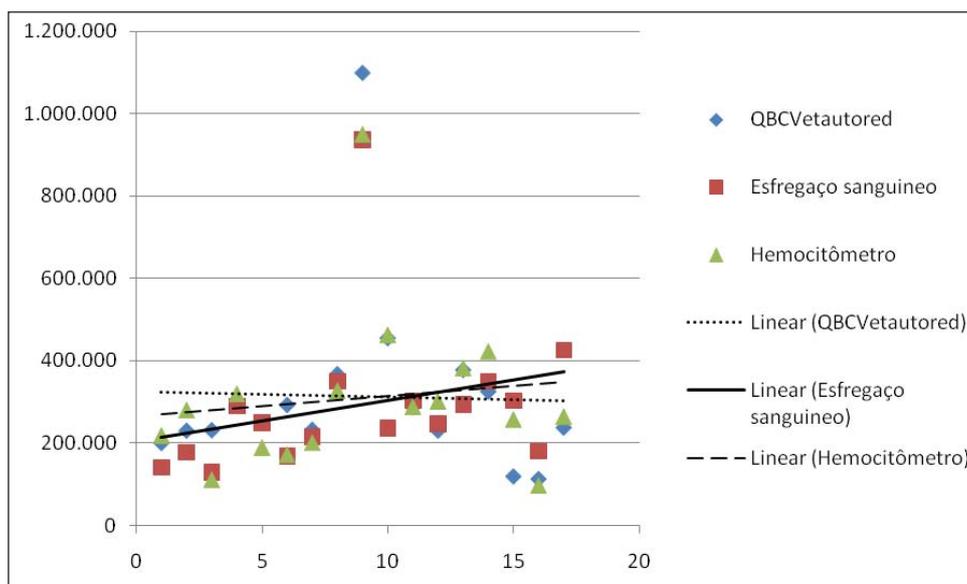


Figura 1. Gráfico de distribuição do número de plaquetas de 17 cães, obtidas pela contagem em hemocítmetro, estimativa em esfregaço sanguíneo e pelo método automatizado do aparelho QBC Vet Autoread®, Laboratório de Anestesiologia da FMVZ-USP, São Paulo.

Tabela 2. Sensibilidade e especificidade dos métodos de contagem plaquetária.

	Hemocítmetro	Esfregaço sanguíneo	QBC Vet Autoread
Sensibilidade	100%	40%	15%
Especificidade	100%	82%	50%

Determinou-se alta correlação (Tabela 3) da tecnologia do QBC comparado à contagem em câmara de Neubauer ($r=0.939$), isto porque a metodologia empregada pelo QBC utiliza a emissão de fluorescência dos diferentes tipos celulares após absorção de acredina laranja e organização das células por centrifugação. Agregados plaquetários podem interferir na contagem plaquetária, assim como na estimativa em lâmina (OLSEN et al., 2004). Segundo Tasker, Cripps e Mackin (2001),

a determinação do número de plaquetas por este aparelho é fiel em animais trombocitopênicos. O contrário é observado nas determinações dos aparelhos que realizam contagem celular por impedância, que tendem a superestimar os valores plaquetários, pela contagem de debris celulares. Entretanto, este tipo de análise pode subestimar os valores em caso de macro plaquetas, que são confundidas com hemácias (OLSEN et al., 2004).

Tabela 3. Média e correlação dos métodos utilizados para estimativa do número de plaquetas/ mm^3 , Laboratório de Anestesiologia da FMVZ-USP, São Paulo.

Coefficiente de correlação	QBC Vet Autoread	Esfregaço sanguíneo
Hemocítmetro	0,939	0,875
Esfregaço sanguíneo	0,895	_____

Foi determinada alta correlação da estimativa em esfregaço sangüíneo com a câmara de Neubauer ($r=0,875$), o que contradiz o estudo de Silva et al. (2007), que determinou correlação de ($r=0,57$), porém deve-se levar em consideração o número de animais avaliados, sendo que no trabalho proposto por Silva et al. (2007) 30 animais foram submetidos a contagem plaquetária.

Como em hemogramas de rotina a confecção de esfregaços sangüíneos é necessária, a estimativa de plaquetas em esfregaço corado é uma alternativa prática para a determinação dos valores plaquetários, além de fornecer informações referentes à morfologia plaquetária, presença de aglomerados plaquetários, hemoparasitas, entre outras alterações. Deve-se levar em consideração a grande diferença entre o número de plaquetas por campo, o local de contagem para a estimativa e a prática do realizador do exame (OLSEN et al., 2004).

Coelho, Jamra e Salem (1981) demonstraram que as amostras contadas pelo método de estimativa em esfregaço sangüíneo estão sujeitas a variáveis, podendo ser devido à má distribuição de plaquetas nos campos focalizados. A presença de macro plaquetas, mesmo em número menor, pode não ocasionar problemas maiores aos animais, pois as plaquetas exercem sua função de acordo com o volume do tampão, portanto poucas plaquetas gigantes podem ter a mesma eficiência de inúmeras plaquetas de tamanho normal. Isto evidencia a importância de avaliação morfológica plaquetária (SANTOS; OLIVEIRA, 2008).

Também foram comparadas as técnicas de determinação de número de plaquetas pelo contador automático e a estimativa em lâmina. Observou-se alta correlação entre a metodologia do automatizada do QBC Vet Autoread® com a estimativa em esfregaço sangüíneo ($r=0,895$).

Leite, Nilson Junior e Miranda (2007) determinou alta correlação entre contagens automatizadas e métodos manuais de determinação do número de

plaquetas, o que contradiz estudo realizado por Silva et al. (2007) que determinou baixa correlação entre resultados de técnicas manuais e automáticas nesta determinação, porém concluiu que ambas as metodologias podem ser utilizadas na rotina laboratorial em medicina veterinária, o que reforça os dados obtidos no presente trabalho.

Conclusão

O método de contagem automático do aparelho QBC Vet Autoread® possui alta correlação com o método padrão de contagem de hemocítômetro e estimativa em esfregaço sangüíneo. Desta forma, as três técnicas podem ser utilizadas como rotina para determinação do número de plaquetas. Em alguns casos existe a necessidade de rapidez no resultado do exame, assim, a tecnologia do QBC Vet Autoread® torna-se uma alternativa prática e confiável nesta determinação. Porém, apesar de não haver diferença significativa entre os valores por estatística, existe uma pequena variação entre os três métodos de contagem, desta forma, preconiza-se que, para animais com trombocitopenia, mais de um método seja utilizado, preferencialmente a contagem por hemocítômetro, para uma determinação mais próxima dos valores reais, evitando assim, resultados falsos positivos para números reduzidos de plaquetas.

O esfregaço sangüíneo e análise morfológica também não podem ser descartados, pois nenhuma das outras técnicas avaliadas neste trabalho tem capacidade de avaliar alterações morfológicas plaquetárias.

Referências

- BAKER, D. C. Diagnóstico dos distúrbios hemostáticos. In: THRALL, M. A. (Ed.). *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Editora Roca, 2007. cap. 14, p. 170-187.
- COELHO, E.; JAMRA, M.; SALEM, M. Z. *Técnicas de estudo da coagulação*. 3. ed. São Paulo: Santos, 1981. 120 p.

- IDEXX LABORATORIES, INC, Westbrook, Maine, USA. Representante no Brasil, importador e distribuidor: Bio Brasil Comércio de produtos veterinários, LTDA. 2002. Disponível em: <<http://www.idexx.com/animalhealth/analyzers/vetautoread/howtouse/64985011.pdf>>. Acesso em: 28 jul. 2009.
- ITALIANO, J. E.; HARTWIG, J. H. Megakaryocyte development and platelet formation. In MICHELSON, A. D. *Platelets*. 2. ed. California: Academic Press, 2002. cap. 3, p. 23-44. Disponível em: <http://books.google.com.br/s?id=GnIQGmiSylkC&pg=PA23&lp_g=PA23&dq=Megakaryocyte+development+and+platelet+formation&source=bl&ots=iVmUfmuYV4&sig=KHMvwGAoy_LFDf2uMwXSCZdV_g&hl=pt-BR&ei=xldwSoeiLJ-vtgeXkrn9DQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1>. Acesso em: 29 jul. 2009.
- JAIN, N. C. The platelets: structural, biochemical and functional aspects. In: FELDMAN, B. F. (Ed.). *Schalm's veterinary hematology*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986, p. 58-178.
- LASSEN, E. D.; WEISNER, G. Tecnologia Laboratorial em Medicina Veterinária. In: THRALL, M. A. (Ed.). *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Editora Roca, 2007. cap. 1, p. 3-36.
- LEITE, C. A. L.; NILSON JUNIOR, S. M.; MIRANDA, S. M. Comparação entre a contagem de plaquetas pelos métodos manual e automatizado. *NewsLab*, v. 81, p. 106-114, 2007. Disponível em: <http://www.newslab.com.br/newslab/ed_anteriores/81/art06/art06.pdf>. Acesso em: 29 jul. 2009.
- LOPES, A. T. S.; BIONDO, W. A.; SANTOS, P. A. *Manual de patologia clínica veterinária*. 3 ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, 2007. 117 p.
- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Distúrbios da hemostasia. In: _____. *Fundamentos da medicina interna de pequenos animais*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 89, p. 939 – 940.
- OLIVEIRA, R. A. G.; TAKADACHI, M. M.; NONOYAMA, K.; BARRETO, O. C. O. Is automated platelet counting still a problem in thrombocytopenic blood?. *São Paulo Medical Journal*, v. 121, n. 1, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/spmj/v121n1/16129.pdf>>. Acesso em: 29 jul. 2009.
- OLSEN, L. H.; KRISTENSEN, A. T.; QVORTRUP, K.; PEDERSEN, H. D. Comparison of manual and automated methods for determining platelet count in dogs with macrothrombocytopenia. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 16, p. 167-170, 2004. Disponível em: <<http://jvdi.org/cgi/reprint/16/2/167?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&searchid=1&FIRSTINDEX=0&sortspec=relevance&volume=16&firstpage=167&resourcetype=HWCIT>>. Acesso em: 29 jul. 2009.
- SANTOS, E. M.; OLIVEIRA, O. M. A. Tamanho de plaquetas e doença vascular. *NewsLab*, v. 87, p. 70-76, 2008. Disponível em: <http://www.newslab.com.br/newslab/ed_anteriores/87/art07.pdf>. Acesso em: 29 jul. 2009.
- SILVA, P. F. N.; BALARIN, M. R. S.; MARUCHI, H. P.; FLAIBAN, K. K. M. da C.; MOROZ, L. R. 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 (HV- UEL). *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 28, n. 4, p. 659-664, out./dez. 2007. Disponível em: <http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/pesquisa/semina/pdf/semina_28_4_19_14.pdf>. Acesso em: 29 jul. 2009.
- TASKER, S.; CRIPPS, P. J.; MACKIN, A. J. Evaluation of methods of platelet counting in the cat. *Journal of Small Animal Practice*, Oxford, v. 42, n. 7, p. 326-332, 2001.
- TVEDTEN, H. Advanced hematology analyzers interpretation of results. *Veterinary Clinical Pathology*, Santa Barbara, v. 22, n. 3, p. 72-80, 1993.