

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO AMAPÁ
MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS PORTO GRANDE

LARISSA AMARAL SACRAMENTO

**ESTUDO COMPARATIVO DO HEMOGRAMA DE PEIXE-BOI-AMAZÔNICO
(*Trichechus inunguis*) REALIZADO POR MICROSCOPIA ÓPTICA E POR
ANALISADOR HEMATOLÓGICO AUTOMÁTICO CALIBRADO NO PERFIL
EQUINO**

PORTO GRANDE - AP

2025

LARISSA AMARAL SACRAMENTO

**ESTUDO COMPARATIVO DO HEMOGRAMA DE PEIXE-BOI-AMAZÔNICO
(*Trichechus inunguis*) REALIZADO POR MICROSCOPIA ÓPTICA E POR
ANALISADOR HEMATOLÓGICO AUTOMÁTICO CALIBRADO NO PERFIL
EQUINO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a coordenação do curso Medicina Veterinária como requisito avaliativo para obtenção do título de Bacharelado em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Magalhães Matos

Coorientador: Dr. Luiz Alberto Sabioni

PORTO GRANDE - AP

2025

S123e Sacramento, Larissa Amaral

Estudo comparativo do hemograma de peixe-boi-amazônico (*Trichechus inunguis*) realizado por microscopia óptica e por analisador hematológico automático calibrado no perfil equino / Larissa Amaral Sacramento -

Porto Grande, 2025.

38 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá, Campus Porto Grande, Bacharelado em Medicina Veterinária, 2025.

Orientador: Paulo Cesar Magalhães Matos Matos. Coorientador: Luiz Alberto Sabioni Sabioni.

1. Hematologia. 2. Peixe-boi-amazônico. 3. Conservação. I. Matos, Paulo Cesar Magalhães Matos, orient. II. Sabioni, Luiz Alberto Sabioni, coorient.


III. Título.

LARISSA AMARAL SACRAMENTO

ESTUDO COMPARATIVO DO HEMOGRAMA DE PEIXE-BOI-AMAZÔNICO
(*Trichechus inunguis*) REALIZADO POR MICROSCOPIA ÓPTICA E POR ANALISADOR
HEMATOLÓGICO AUTOMÁTICO CALIBRADO NO PERFIL EQUINO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
a coordenação do curso Medicina Veterinária
como requisito avaliativo para obtenção do
título de Bacharelado em Medicina
Veterinária.


BANCA EXAMINADORA



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá

Documento assinado digitalmente
 IVELY MALUNA FERREIRA DE ALMADA
Data: 23/01/2026 15:30:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Esp. Ively Maluna Ferreira de Almada Médica

Veterinária Autônoma

Apresentado em: 22/12/2025. Conceito/Nota:

APROVADA/9,3

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, força que rege todas as coisas e une todos os seres vivos, da qual faço parte e que me concedeu um dos mais belos propósitos: cuidar daqueles que não podem falar, mas que são capazes de nos ensinar sobre a vida e sobre a nossa própria humanidade. É essa força que guia minha consciência e me mostra que cuidar do outro é, também, cuidar de mim.

À minha família, expresse minha profunda gratidão pelo apoio incondicional em cada etapa desta caminhada. Obrigada pelo suporte financeiro e emocional, por compartilharem comigo a saudade e, acima de tudo, por acreditarem em mim e nos meus sonhos, mesmo quando o cenário não era favorável. Nada disso seria possível sem vocês.

À professora Alessandra Bela Reis e ao professor João Maria do Amaral, agradeço pela dedicação, paciência e disponibilidade, fundamentais para o fortalecimento e crescimento do primeiro curso de Medicina Veterinária do estado.

Aos meus orientadores, Paulo César Magalhães Matos e Luiz Alberto Sabioni, deixo minha gratidão sincera por toda a inspiração, pelas oportunidades, conselhos e pelo apoio constante. A disponibilidade, o carinho e o incentivo de vocês foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

Aos meus colegas de turma, que comigo enfrentaram os mesmos desafios e tornaram essa jornada mais leve. Em especial, ao meu grupo de amigas Clara Castro, Letícia Modesto, Gabriele Santos e Ingrid Corrêa, por dividirem comigo angústias, conquistas, risadas e aprendizados. Vocês se tornaram meu lar enquanto estive longe do meu e, com o tempo, passaram a fazer parte da minha família.

Aos meus companheiros de todas as horas, meu cachorro Aslam e minha gata Morgan, agradeço pelo conforto emocional nos momentos difíceis e pela ajuda prática nos treinamentos de exame clínico. Obrigada por suportarem a saudade sem mágoas e por ensinarem, com pureza e amor, aquilo que só os animais são capazes de transmitir.

Por fim, estendo meus agradecimentos a todos os animais deste planeta, que desempenham com perfeição seus papéis ecológicos e tornam o meio ambiente equilibrado. Que, como médica veterinária, eu possa retribuir tudo o que nos oferecem, dedicando-me à proteção, conservação e cuidado de cada vida, com compromisso, respeito e responsabilidade.

“A grandeza de uma nação e seu progresso moral podem ser julgados pela maneira como seus animais são tratados.”

(Mahatma Gandhi).

RESUMO

O peixe-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*) é um mamífero aquático de grande relevância ecológica e conservacionista, cuja avaliação clínica em cativeiro depende de exames laboratoriais confiáveis, com destaque para o hemograma. Considerando a ausência de analisadores hematológicos automáticos com calibração específica para a espécie, o presente estudo teve como objetivo comparar os resultados do hemograma obtidos por microscopia óptica (método manual) e por analisador hematológico automático calibrado no perfil equino. Foram avaliados dois indivíduos de *T. inunguis* mantidos em cativeiro no município de Macapá, Amapá. As amostras sanguíneas foram coletadas e analisadas por ambos os métodos, sendo os dados expressos em média \pm desvio padrão. Devido ao reduzido tamanho amostral, a análise adotada foi uma comparação descritiva, com avaliação da precisão das repetições e da diferença absoluta entre os métodos. Os resultados evidenciaram que o método automático apresentou maior precisão analítica, caracterizada por menores valores de desvio padrão. No entanto, foram observadas diferenças relevantes entre os métodos para diversos parâmetros hematológicos, especialmente para a estimativa de plaquetas e para o leucograma, indicando baixa concordância e não intercambialidade entre as técnicas. Os parâmetros eritrocitários mostraram maior proximidade com valores de referência descritos na literatura, sobretudo quando obtidos pelo método manual. Conclui-se que, embora o analisador automático calibrado no perfil equino apresente boa repetibilidade, sua utilização em *T. inunguis* deve ser realizada com cautela e sempre acompanhada da avaliação microscópica, reforçando a necessidade de validação específica para a espécie.

Palavras-chave: peixe-boi-da-Amazônia; hematologia veterinária; métodos diagnósticos; analisador hematológico; sirênios.

ABSTRACT

The Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*) is an aquatic mammal of great ecological and conservation importance, whose clinical evaluation in captivity relies on reliable laboratory tests, particularly the complete blood count. Given the lack of automated hematology analyzers specifically calibrated for this species, this study aimed to compare hematological results obtained by optical microscopy (manual method) and by an automated hematology analyzer calibrated with an equine profile. Two captive *T. inunguis* individuals from Macapá, Amapá, Brazil, were evaluated. Blood samples were collected and analyzed using both methods, with results expressed as mean \pm standard deviation. Due to the limited sample size, the adopted analysis was a descriptive comparison, focusing on analytical precision and absolute differences between methods. The automated method showed higher analytical precision, characterized by lower standard deviation values. However, marked differences were observed between methods for several hematological parameters, particularly platelet estimation and leukocyte counts, indicating low concordance and lack of interchangeability. Erythrocyte parameters were more consistent with reference values reported in the literature, especially when assessed by the manual method. It is concluded that, although the automated analyzer calibrated with an equine profile demonstrates good repeatability, its use in *T. inunguis* should be interpreted with caution and always complemented by microscopic evaluation, highlighting the need for species-specific validation.

Keywords: Amazonian manatee; veterinary hematology; diagnostic methods; hematology analyzer; sirenians.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros hematológicos de referência para <i>Trichechus inunguis</i> em cativeiro. .	22
Tabela 2 - Valores hematológicos de dois peixes-boi amazônicos (<i>Trichechus inunguis</i>), obtidos por microscopia óptica (método manual) e por analisador hematológico automático, expressos em média \pm desvio padrão; a diferença corresponde ao valor do método manual subtraído do método automático).	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de peixe-boi-da-Amazônia (<i>Trichechus inunguis</i>), evidenciando múltiplos agregados plaquetários. Coloração por Panótico Rápido, objetiva de imersão (100×).....	30
---	----

LISTA DE SIGLAS

CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média

DP – Desvio padrão

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

HCM – Hemoglobina corpuscular média

ICSH – International Council for Standardization in Haematology

IFAP – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá

MID – Mixed cell population

TCC – Trabalho de Conclusão de Curso

VCM – Volume corpuscular médio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	Taxonomia.....	13
2.2	Habitat e Distribuição.....	14
2.2.1	Zona de Simpatria e Evidências de Hibridização.....	14
2.3	Características gerais da espécie.....	15
2.4	Características Anatomofisiológicas.....	16
2.4.1	Morfologia Externa e Biometria.....	16
2.4.2	Anatomia Interna e Fisiologia.....	17
2.4.3	Características Reprodutivas.....	17
2.5	Cativeiro e reabilitação.....	18
2.6	Hematologia do peixe-boi.....	19
2.7	Análises Clínicas em Sirênios.....	21
2.7.1	Coleta e Processamento de Amostras Sanguíneas.....	21
2.7.2	Interpretação dos Parâmetros Hematológicos.....	21
2.8	Validação de Analisadores Hematológicos.....	23
2.9	Análises Estatísticas Utilizadas na Validação de Analisadores Hematológicos.....	25
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1	Caracterização dos Animais e Local de Estudo.....	26
3.2	Análise Hematológica Automatizada.....	27
3.3	Análise Hematológica Manual.....	27
3.4	Análise Estatística Descritiva dos Métodos.....	28
4	RESULTADOS.....	29
5	DISCUSSÃO.....	32
6	Conclusão.....	36
	REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

O peixe-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*) é um mamífero aquático da ordem Sirenia e família Trichechidae, que também inclui o peixe-boi-das-Índias Ocidentais (*Trichechus manatus*) e o peixe-boi-africano (*T. senegalensis*) (Jefferson *et al.*, 1993).

No Brasil, o peixe-boi-da-Amazônia é encontrado nos Estados do Acre, Amapá, Amazonas, Pará e Roraima. É habitante exclusivo de águas doces da bacia amazônica, com preferência por águas calmas, turvas, áreas de várzea, e canais com alta disponibilidade de alimentos. Sua distribuição acompanha o curso do Rio Amazonas e seus principais afluentes, estendendo-se a Colômbia, Peru e Equador (Souza *et al.*, 2024; Bonvicino *et al.*, 2020).

A espécie enfrenta sérias ameaças, principalmente devido à caça histórica e à degradação de seu habitat natural. Como resultado, o *T. inunguis* é classificado como vulnerável pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) e como “em perigo crítico” pelo Plano de Ação para Mamíferos Aquáticos (IBAMA, 2001), o que ressalta a urgência de esforços contínuos para sua conservação e manejo (Marmontel *et al.*, 2016). Nesse cenário, a avaliação dos animais mantidos em cativeiro por meio de exames clínicos periódicos torna-se uma ferramenta indispensável, destacando-se entre eles o hemograma. Este exame, que engloba o eritrograma, leucograma e contagem de plaquetas, fornece uma gama de informações sobre o estado de saúde do animal em resposta a mudanças nutricionais, ambientais e patológicas (Moya, 2022).

Com o avanço da patologia clínica, novas técnicas de análises hematológicas e equipamentos automatizados foram desenvolvidos para melhor atender a demanda por especificidade e agilidade na contagem de células sanguíneas, sendo hoje amplamente utilizados na rotina laboratorial. Em contrapartida, os métodos manuais, embora precisos, são mais demorados, exigem maior habilidade do operador e mostram-se economicamente viáveis apenas quando aplicados a um número reduzido de amostras (Miranda, 2014).

A validação desses métodos é rigorosamente orientada por órgãos como o Conselho Internacional para Padronização em Hematologia (ICSH), que define a precisão como a medida de concordância entre um valor estimado e um valor de referência, obtido por método independente. Assim, a comparação entre técnicas é um procedimento padrão para avaliar instrumentos hematológicos. Quando surgem divergências nos resultados, é imperativo identificar qual método apresenta menor precisão. Este processo de validação comparativa é

crucial para avaliar sua aplicabilidade e confiabilidade na prática clínica veterinária, especialmente ao se considerar a ampla oferta de analisadores no mercado e a necessidade de identificar alertas que exigem a conferência manual em lâmina (Miranda, 2014).

Atualmente, não existem analisadores hematológicos automáticos comerciais com calibração específica para o peixe-boi. Na prática, médicos veterinários recorrem à calibração de perfis de outras espécies, como o canino (Chaves et al., 2022), e o equino, conforme proposto neste estudo. A escolha de um perfil adequado é crítica, pois a contagem sanguínea de peixes-boi deve acomodar as particularidades de suas células, como as hemácias, que possuem maior dimensão quando comparadas às de outros mamíferos (Oliveira, 2008).

Adicionalmente, é fundamental que cada centro de reabilitação desenvolva e utilize seus próprios valores de referência hematológicos para as espécies sob sua responsabilidade, considerando que fatores como condições climáticas, tipo de manejo e ambiente podem influenciar significativamente os componentes do hemograma (Oliveira, 2008). No caso dos sirênios, especialmente do peixe-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*), a literatura ainda é limitada quanto aos padrões hematológicos e à sua correta interpretação. Embora o hemograma seja um exame rotineiro e relativamente simples, obter dados hematológicos confiáveis para essa espécie representa um desafio, dada sua fisiologia particular pouco conhecida ou relatada. Portanto, o presente estudo teve como objetivo comparar os valores de parâmetros hematológicos de peixes-boi-da-Amazônia obtidos por meio de analisador automático GENVET VH20 calibrado com o perfil equino e pela contagem manual em microscopia óptica, visando contribuir para a validação de métodos automatizados para a espécie.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Taxonomia

O peixe-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*) pertence à ordem Sirenia, um grupo de mamíferos aquáticos herbívoros que, atualmente, compreende quatro espécies viventes distribuídas em duas famílias distintas: Trichechidae e Dugongidae. A classificação taxonômica completa, em conformidade com o padrão estabelecido pelas principais autoridades em mastozoologia (COMMITTEE ON TAXONOMY, 2023), organiza a ordem da seguinte forma:

A ordem Sirenia é dividida em duas famílias, que se diferenciam por características morfológicas, como o formato da nadadeira caudal e a dentição.

A Família Trichechidae agrupa as espécies popularmente conhecidas como peixes-boi, caracterizadas pela nadadeira caudal arredondada, em formato de pá. Atualmente, a família é composta por um único gênero, *Trichechus*, com três espécies viventes:

- a) *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883): O peixe-boi-da-Amazônia, foco deste estudo, é a única espécie da família restrita a ambientes de água doce;
- b) *Trichechus manatus* (Linnaeus, 1758): O peixe-boi-marinho ou das Índias Ocidentais, que habita as costas do Oceano Atlântico e é subdividido em duas subespécies: o peixe-boi-da-flórida (*T. m. latirostris*) e o peixe-boi-das-antilhas (*T. m. manatus*);
- c) *Trichechus senegalensis* (Link, 1795): O peixe-boi-africano, encontrado na costa oeste da África.

A Família Dugongidae (Dugongos) é representada hoje por uma única espécie vivente, o dugongo, que se distingue pela nadadeira caudal bifurcada, semelhante à dos cetáceos.

- a) *Dugong dugon* (Müller, 1776): O dugongo, que ocorre nas águas costeiras dos oceanos Índico e Pacífico.
- b) *Hydrodamalis gigas* (Zimmerman, 1780): A vaca-marinha-de-steller, uma espécie de grandes proporções que habitava o Mar de Bering. Infelizmente, foi caçada até a extinção no século XVIII, pouco tempo após sua descoberta pela ciência ocidental.

Portanto, o *Trichechus inunguis* representa uma das três espécies viventes da família Trichechidae, sendo um componente fundamental da biodiversidade de mamíferos aquáticos da bacia amazônica.

2.2 Habitat e Distribuição

A ordem Sirenia possui uma ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais do globo. Na América do Sul, o peixe-boi-da-amazônia (*Trichechus inunguis*) destaca-se como uma espécie endêmica da bacia amazônica, sendo o único sirênio restrito a ambientes de água doce (INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, 2018). Sua ocorrência abrange a maior parte da drenagem do Rio Amazonas e seus principais afluentes, como os rios Solimões, Japurá, Juruá, Purus, Negro e Tapajós, estendendo-se desde as nascentes na Colômbia, Equador e Peru, até a foz do Amazonas no Brasil, próximo à Ilha de Marajó (Marmontel et al., 2016; Silva et al., 2012).

Trichechus inunguis demonstra preferência por ambientes de águas calmas e rasas, onde há elevada produtividade de macrófitas aquáticas, sua principal fonte de alimento. Embora seja encontrado nos três tipos de rios amazônicos (águas brancas, pretas e claras), sua abundância é significativamente maior em rios de água branca, que apresentam maior produção primária (Best, 1984; Rosas, 1994). A temperatura da água também constitui um fator limitante para sua distribuição, com a espécie habitando águas que se mantêm acima de 23 °C (Best, 1984).

O uso do habitat por *T. inunguis* é intrinsecamente ligado ao pulso de inundação sazonal dos rios. Durante o período de cheia, a espécie se dispersa por áreas de floresta alagada (várzea), onde encontra vasta disponibilidade de alimento. Com a chegada da estação seca e a retração das águas, os animais realizam migrações sazonais, deslocando-se por longas distâncias para se agregarem em refúgios, como lagos permanentes e canais mais profundos dos rios (Souza et al., 2021).

2.2.1 Zona de Simpatria e Evidências de Hibridização

Embora *T. inunguis* seja uma espécie de água doce, sua distribuição se sobrepõe à do peixe-boi-marinho (*Trichechus manatus*) na região da foz do Rio Amazonas, estabelecendo uma zona de simpatria. Registros confirmam a presença de ambas as espécies na Baía de

Marajó e ao longo da costa leste da Ilha do Marajó e do estado do Amapá (Bonvicino et al., 2020).

Nesta zona de contato, têm sido encontradas evidências morfológicas e genéticas que sugerem a ocorrência de hibridização interespecífica. Estudos de campo relataram a observação de indivíduos com características fenotípicas intermediárias, como a presença de unhas nas nadadeiras peitorais (típicas de *T. manatus*) combinada a manchas ventrais brancas (típicas de *T. inunguis*) (Bonvicino et al., 2020). A existência de híbridos tem sido consistentemente documentada ao longo da costa do Amapá, estendendo-se pela Guiana Francesa e Guiana, confirmando que o fluxo gênico entre as duas espécies é um fenômeno relevante na região (Lima et al., 2019; Oliveira et al., 2022; Bonvicino et al., 2020).

2.3 Características gerais da espécie

O peixe-boi-da-Amazônia é uma espécie de hábitos predominantemente solitários, e informações detalhadas sobre sua estrutura social ainda são limitadas. A unidade social mais estável e duradoura observada é o par mãe-filhote, cuja associação pode se estender por mais de dois anos (Best, 1982; Silva et al., 2000). A comunicação vocal desempenha um papel crucial na manutenção desta interação, permitindo o reconhecimento individual entre a mãe e sua cria (Sousa-Lima et al., 2002). Apesar do comportamento solitário, agregações temporárias podem ser observadas, especialmente durante a estação seca, quando os animais se concentram nos refúgios aquáticos, ou para fins reprodutivos (Souza, 2015).

A biologia reprodutiva do *T. inunguis* é caracterizada por um baixo potencial de crescimento populacional. A espécie gera um único filhote por gestação, que dura aproximadamente 11 a 12 meses (Best, 1984). O filhote é amamentado por um período de cerca de dois anos, e a maturidade sexual é atingida de forma tardia: por volta dos três anos para fêmeas e seis anos para machos. Essas características reprodutivas, combinadas a um longo ciclo de vida, tornam a espécie particularmente sensível a pressões antrópicas, como a caça e a degradação de seus habitats, reforçando sua condição de vulnerabilidade (Best, 1984; Rosas, 1994).

A separação do par mãe-filhote é um fator determinante em muitos dos encalhes. Filhotes isolados tornam-se suscetíveis a correntes marinhas e outros perigos naturais. Além

das barreiras físicas, a poluição sonora gerada por embarcações e outras atividades antrópicas pode interferir diretamente na comunicação acústica entre a mãe e sua cria. Essa comunicação é vital, pois se baseia em um repertório vocal específico que garante a coesão do grupo e, conseqüentemente, a sobrevivência do filhote nos primeiros estágios de vida (Sousa-Lima et al., 2002)

2.4 Características Anatomofisiológicas

2.4.1 Morfologia Externa e Biometria

O peixe-boi-da-Amazônia (*T. inunguis*) é a menor e mais esbelta das espécies da família Trichechidae, atingindo um comprimento corporal de até 3,0 metros e peso de aproximadamente 450 kg (Best, 1984). Seu nome específico, *inunguis*, deriva de uma de suas características mais distintivas: a ausência de unhas vestigiais nas nadadeiras peitorais, que estão presentes nas outras espécies do gênero *Trichechus* (Gulland et al., 2018).

O corpo é fusiforme, adaptado ao ambiente aquático, e recoberto por uma pele lisa, de coloração cinza-escura a preta, com uma cobertura esparsa de pelos finos. Uma característica marcante da espécie é a presença de manchas ventrais de hipopigmentação, de cor branca ou rosada, cujo padrão é único para cada indivíduo, servindo como um método eficaz para a fotoidentificação em estudos populacionais (Marmontel et al., 2023; Silva, Cláudia et al., 2012). A cabeça apresenta um focinho com lábios grandes e flexíveis, dotados de vibrissas táteis, e narinas com válvulas que se fecham durante a submersão. Não há pavilhões auriculares externos (Best, 1984). A cauda, em formato de pá arredondada, é o principal órgão de propulsão.

2.4.2 Anatomia Interna e Fisiologia

O trato gastrointestinal do *T. inunguis* é altamente especializado para uma dieta herbívora. O estômago é sacular e possui uma glândula cárdica acessória, responsável pela secreção de muco e enzimas digestivas. O intestino é notavelmente longo, e a junção entre o intestino delgado e o grosso é marcada pela presença de um ceco com dois divertículos, estruturas associadas à digestão fermentativa da celulose (Reynolds; Rommel, 1999). A dentição é do tipo polifiodonte, com uma "marcha molar" contínua onde os dentes molares posteriores se movem para frente para substituir os dentes desgastados, que são perdidos na região anterior da mandíbula (Gulland et al., 2018).

A fisiologia da espécie é caracterizada por uma baixa taxa metabólica, uma adaptação para a conservação de energia em um animal herbívoro de grande porte. Essa característica, no entanto, torna os sirênios particularmente suscetíveis ao estresse por frio quando expostos a mudanças bruscas de temperatura da água, podendo levar a uma síndrome de alta morbidade e mortalidade (Bodmer; Marmontel; Reynolds, 2023). A respiração é pulmonar, com uma frequência variável; os animais podem permanecer submersos por 2 a 5 minutos em atividade normal, mas este tempo pode se estender significativamente durante o repouso (Gulland et al., 2018).

2.4.3 Características Reprodutivas

A distinção sexual externa é sutil, baseada na posição da abertura urogenital: localizada próxima à cicatriz umbilical nos machos e em posição mais caudal, próxima ao ânus, nas fêmeas. Os órgãos genitais de ambos os sexos são internos. As fêmeas possuem um par de glândulas mamárias localizadas na região axilar, sob as nadadeiras peitorais (Gulland et al., 2018). A espécie é longeva, com estimativas de expectativa de vida que podem alcançar de 50 a 60 anos na natureza (Bodmer; Marmontel; Reynolds, 2023).

2.5 Cativeiro e reabilitação

A manutenção de peixes-boi em cativeiro e os programas de reabilitação são componentes cruciais da estratégia de conservação da espécie no Brasil, conforme delineado pelo Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Sirênios (PAN Sirênios). Este plano, coordenado pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Mamíferos Aquáticos (CMA/ICMBio), estabelece que o resgate e a reabilitação de indivíduos vulneráveis, principalmente filhotes órfãos, são ações prioritárias para mitigar a mortalidade na natureza (ICMBio, 2011).

O objetivo final desses programas não é a manutenção indefinida dos animais em cativeiro, mas sim a sua reabilitação bem-sucedida para uma futura reintrodução em ambientes naturais, visando reforçar as populações selvagens. Para alcançar essa meta, o PAN Sirênios incentiva o desenvolvimento de pesquisas que aprimorem os protocolos de manejo, nutrição e, fundamentalmente, de medicina veterinária. Nesse contexto, o monitoramento da saúde por meio de análises clínicas, como o hemograma, torna-se uma ferramenta indispensável para avaliar o bem-estar e a aptidão dos animais durante todo o processo de reabilitação (ICMBio, 2011; Gulland et al., 2018)

A coordenação das ações de resgate, reabilitação e manejo de sirênios no Brasil é de responsabilidade do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Mamíferos Aquáticos (CMA/ICMBio), conforme estabelecido pelo PAN Sirênios (ICMBio, 2011).

Os desafios médicos e de manejo associados à reabilitação são complexos, especialmente no cuidado com neonatos, que chegam aos centros frequentemente desidratados, hipoglicêmicos e com o sistema imune comprometido. A primeira etapa do tratamento envolve a estabilização do animal, a fluidoterapia e o início da alimentação com uma fórmula láctea substituta. A composição dessa dieta é crítica e deve ser cuidadosamente balanceada para se aproximar do leite materno, sendo geralmente baseada em uma mistura de leite de soja, óleo de coco, vitaminas e minerais. A transição para uma dieta herbívora sólida, com a introdução gradual de macrófitas aquáticas, é um marco no desenvolvimento do filhote (Gulland et al., 2018).

O monitoramento contínuo da saúde é indispensável durante todo o processo. Análises clínicas periódicas, com destaque para o hemograma e a bioquímica sérica, são ferramentas

essenciais para avaliar o estado nutricional, detectar processos inflamatórios ou infecciosos subclínicos e monitorar a adaptação do animal ao ambiente de cativeiro. Parâmetros como o ganho de peso, o comportamento alimentar e os valores hematológicos são os principais indicadores do sucesso da reabilitação e da aptidão do indivíduo para as fases subsequentes do programa de reintrodução (Gulland et al., 2018).

Um exemplo prático da aplicação bem-sucedida desses protocolos no Brasil é o caso descrito por Silva et al. (2012). Os autores relataram a reabilitação de um filhote de peixe-boi-marinho (*Trichechus manatus*) encontrado encalhado no litoral do Ceará. O animal foi submetido a um rigoroso protocolo de cuidados que incluiu alimentação com fórmula láctea especializada, monitoramento veterinário constante e uma gradual readaptação em cativeiros de semi-vida livre. Após anos de reabilitação, o animal foi considerado apto e foi solto com sucesso em uma Área de Proteção Ambiental, demonstrando como a integração entre manejo cuidadoso e ciência veterinária é fundamental para a efetividade dos programas de conservação da espécie no país.

2.6 Hematologia do peixe-boi

A análise hematológica é uma das ferramentas mais valiosas e informativas na medicina de mamíferos aquáticos, fornecendo um panorama abrangente da saúde de um indivíduo. Para os sirênios, o hemograma completo é fundamental no monitoramento de animais sob cuidados humanos, na avaliação de indivíduos resgatados e na investigação de doenças em populações selvagens. Ele permite a detecção precoce de condições subclínicas e auxilia na formulação de diagnósticos e prognósticos precisos (Gulland et al., 2018).

No contexto mais amplo dos mamíferos marinhos, a hematologia dos sirênios apresenta particularidades notáveis. Suas hemácias (eritrócitos) são caracteristicamente grandes (macrocíticas) e podem exibir uma variação de forma (poiquilocitose) que seria considerada anormal em muitas espécies terrestres. O Volume Corpuscular Médio (VCM) em *T. inunguis* jovens, por exemplo, é reportado em torno de $85,33 \pm 4,28$ fL (Sousa et al., 2016). Em comparação, o VCM de cães adultos varia tipicamente entre 60 e 77 fL (Harvey, 2012). Já o equino possui o VCM entre (37 - 55 fL) (Walton, 2013), considerado baixo em comparação com outros mamíferos. Essa macrocitose é uma característica comum em mamíferos

aquáticos, embora os peixes-boi apresentem valores ligeiramente menores do que alguns cetáceos e pinípedes (Castellini, 2010).

A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em peixes-boi é alta (cerca de 33,13%), o que é uma adaptação fisiológica para maximizar a capacidade de transporte de oxigênio no sangue. Essa alta concentração de hemoglobina é essencial para suportar os períodos de apneia durante o mergulho, permitindo que o animal armazene mais oxigênio no sangue do que mamíferos terrestres de porte semelhante (Scholander, 1940).

Diferente da maioria dos mamíferos terrestres, os peixes-boi possuem heterófilos como o granulócito mais abundante, em vez de neutrófilos (Stacy, 2022). Os heterófilos são o equivalente funcional dos neutrófilos, mas apresentam grânulos citoplasmáticos proeminentes que se coram em tons de rosa ou vermelho-alaranjado com corantes de rotina (como Wright-Giemsa) (Harvey, 2009). Os neutrófilos, células de defesa primária, podem apresentar um núcleo com segmentação nuclear pouco evidente, sendo por vezes classificados como "pseudopelgeroides", uma característica que não deve ser confundida com uma resposta inflamatória de desvio à esquerda.

Além disso, a resposta leucocitária a doenças em sirênios tende a ser menos pronunciada em comparação com outros mamíferos, com infecções graves ocorrendo, por vezes, com apenas uma leucocitose leve a moderada. Compreender essas características basais é crucial para evitar interpretações equivocadas dos resultados (Gulland et al., 2018; Harvey, 2012). Estudos recentes têm caracterizado os leucócitos dos peixes-boi, identificando um tipo de monócito com núcleo bilobado, uma característica morfológica compartilhada com seus parentes filogenéticos mais próximos, os elefantes e os hircóides (Cagle et al., 2023). Essa semelhança morfológica reforça a relação evolutiva entre essas espécies.

Os peixes-boi tendem a apresentar uma proporção elevada de linfócitos circulantes, o que é considerado uma característica da ordem Sirenia. Uma possível explicação para isso é a ausência de medula óssea nos ossos longos (paquiostose), o que pode influenciar a produção e distribuição das células sanguíneas (Sousa, 2016).

2.7 Análises Clínicas em Sirênios

A avaliação da saúde de mamíferos aquáticos mantidos sob cuidados humanos ou em vida livre depende fundamentalmente da análise de parâmetros clínicos, sendo o hemograma uma das ferramentas diagnósticas mais importantes e informativas.

2.7.1 Coleta e Processamento de Amostras Sanguíneas

Em sirênios, a venopunção para coleta de sangue é realizada preferencialmente na região palmar da nadadeira peitoral, no plexo venoso braquial localizado no espaço interósseo entre o rádio e a ulna. Para minimizar o risco de contaminação da amostra, uma rigorosa assepsia do local de punção é necessária (Gulland et al., 2018). O volume de sangue coletado varia conforme a necessidade diagnóstica, sendo as amostras para hematologia acondicionadas em tubos contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) como anticoagulante. A imediata homogeneização da amostra por inversão suave e o processamento em tempo hábil são cruciais para garantir a integridade celular e a fidedignidade dos resultados (Harvey, 2012). Caso a análise não possa ser realizada no mesmo dia, a amostra deve ser refrigerada entre 2 °C e 8 °C.

2.7.2 Interpretação dos Parâmetros Hematológicos

O hemograma fornece informações essenciais sobre o estado fisiológico e sanitário do animal. A análise do eritrograma, por exemplo, permite a identificação de quadros anêmicos ou de policitemia, que podem estar associados a processos patológicos ou a respostas fisiológicas, como a desidratação (policitemia relativa) (Thrall, 2012).

O leucograma, por sua vez, é um indicador sensível da resposta imune do organismo. A leucocitose, um aumento na contagem total de leucócitos, é frequentemente associada a processos infecciosos (bacterianos ou fúngicos), inflamação, estresse ou necrose tecidual. A interpretação do tipo de célula predominante (neutrofilia, linfocitose) é fundamental para direcionar o diagnóstico. Em contrapartida, a leucopenia, caracterizada pela redução na contagem de leucócitos, pode indicar infecções virais agudas, sepse ou depressão da medula óssea por agentes tóxicos ou infecciosos (Thrall, 2012; Gulland et al., 2018).

A interpretação correta desses parâmetros, no entanto, depende da existência de valores de referência específicos para a espécie, que podem variar segundo a idade, o sexo e as condições de manejo do animal. Portanto, a validação de técnicas analíticas e o estabelecimento de intervalos de referência para o peixe-boi-da-Amazônia são passos fundamentais para aprimorar a medicina conservacionista da espécie. Atendendo a essa necessidade, o estudo pioneiro de Oliveira et al. (2007) analisou uma população de peixes-boi-da-Amazônia em cativeiro e estabeleceu os primeiros valores de referência hematológica para a espécie. Estes parâmetros, que servem como base para a interpretação de hemogramas e para o monitoramento da saúde destes animais, estão detalhados na tabela 1.

Tabela 1- Parâmetros hematológicos de referência para *Trichechus inunguis* em cativeiro.

Parâmetro	Média ± desvio padrão	Intervalo de referência
Eritrograma		
Hemácias (10 ⁶ /μl)	3,13 ± 0,34	2,52 - 3,80
Hemoglobina (g/dl)	14,9 ± 1,3	12,5 - 17,4
Hematócrito (%)	45 ± 4	38 - 53
VCM (fl)	144 ± 11	127 - 165
HCM (pg)	47,8 ± 4,1	40,3 - 55,9
CHCM (g/dl)	33,2 ± 1,3	30,5 - 35,8
Leucograma		
Leucócitos totais (/μl)	8.280 ± 2.210	4.700 - 13.200
Neutrófilos (/μl)	3.478 ± 1.547	1.128 - 7.000
Linfócitos (/μl)	3.892 ± 1.444	1.645 - 7.260
Monócitos (/μl)	497 ± 299	94 - 1.188
Eosinófilos (/μl)	414 ± 355	0 - 1.300
Basófilos (/μl)	0	0

Fonte: Adaptado de Oliveira et al. (2007).

Ao comparar esses dados com os de outras espécies do mesmo gênero, nota-se uma considerável semelhança. Os valores de referência para o peixe-boi-marinho (*Trichechus manatus*), por exemplo, apresentam intervalos de hematócrito e contagem de leucócitos que se sobrepõem amplamente aos do *T. inunguis*. No entanto, pequenas diferenças, como um volume corpuscular médio (VCM) ligeiramente maior no peixe-boi-da-Amazônia, ressaltam a

importância de utilizar dados específicos da espécie para uma interpretação clínica mais acurada e refinada (Gulland et al., 2018).

Adicionalmente, estudos regionais têm contribuído para o entendimento da hematologia da espécie em diferentes condições de manejo. Em uma avaliação do eritrograma de peixes-boi-da-Amazônia mantidos em cativeiro em Santarém, Pará, observou-se que, embora os valores médios de hematócrito e hemoglobina estivessem alinhados com os padrões já estabelecidos, havia uma considerável variação individual. Essa variabilidade pode ser influenciada por fatores como a dieta específica oferecida no local, a idade dos animais e o nível de estresse associado ao manejo. Tais achados reforçam a importância de não apenas utilizar os valores de referência publicados, mas também de considerar as particularidades de cada instituição e de cada animal ao interpretar os resultados hematológicos, destacando a necessidade de um monitoramento contínuo e individualizado (Chaves et al., 2022)

2.8 Validação de Analisadores Hematológicos

A introdução de analisadores hematológicos automáticos na rotina laboratorial revolucionou a patologia clínica, oferecendo resultados rápidos e padronizados. No entanto, a confiabilidade e a utilidade clínica desses resultados dependem diretamente de um rigoroso processo de validação e verificação, que assegura que o equipamento funcione de maneira precisa e exata para a população de amostras a ser analisada. O Conselho Internacional para Padronização em Hematologia (ICSH) estabelece as diretrizes globais para este processo, fornecendo um protocolo detalhado para a avaliação de novos instrumentos (Briggs et al., 2014).

Segundo as recomendações do ICSH, a validação de um analisador hematológico envolve a avaliação de múltiplos parâmetros de desempenho. Entre os mais importantes estão a precisão, que mede a concordância entre resultados de medições repetidas da mesma amostra (reprodutibilidade); a exatidão, que avalia a concordância entre o resultado do analisador e um "valor verdadeiro", geralmente obtido por um método de referência; a linearidade, que verifica a capacidade do instrumento de fornecer resultados proporcionais à concentração do analito em toda a sua faixa de medição; e a transferência (*carryover*), que quantifica a contaminação de uma amostra pela amostra anterior (Briggs et al., 2014).

Na medicina veterinária, a aplicação desses princípios é ainda mais crítica devido à grande diversidade de espécies. Para a avaliação da exatidão, o método de referência considerado padrão-ouro (*gold standard*) é a análise manual por microscopia óptica, realizada por um profissional experiente. Este método é indispensável, especialmente ao se trabalhar com espécies não domésticas ou exóticas, para as quais os algoritmos dos analisadores não foram desenvolvidos. A contagem em câmara de Neubauer e a contagem diferencial em esfregaço sanguíneo corado são as técnicas de referência contra as quais os resultados automatizados devem ser comparados (Harvey, 2012).

A validação de analisadores para espécies específicas ou não convencionais, comparando os resultados automatizados com os métodos manuais, é uma prática essencial e bem estabelecida na literatura científica. Estudos demonstram essa necessidade tanto na validação de novas tecnologias ópticas em equipamentos modernos (Stahler, 2021) quanto na aplicação prática para espécies não-padrão, como os muares, para os quais o perfil equino também é utilizado como aproximação (Miranda, 2014). Contudo, para muitas espécies selvagens, como o peixe-boi-da-amazônia, não existem softwares ou calibrações comerciais disponíveis. Diante dessa lacuna, torna-se necessária a avaliação de um perfil de uma espécie doméstica como um *proxy*. Apesar das limitações amostrais que impedem a aplicação de testes inferenciais robustos, a comparação descritiva simples entre o método manual e o analisador automático utilizando um perfil proxy (equino), oferece uma contribuição valiosa. A análise descritiva, focada na avaliação da precisão (Desvio Padrão das repetições) e na magnitude das diferenças entre os métodos, permite um primeiro nível de confiança. A precisão, expressa pela repetibilidade, é um parâmetro fundamental na validação de métodos analíticos, pois quantifica a dispersão dos resultados obtidos sob as mesmas condições (BRASIL, 2017). Se o método automático demonstrar consistentemente uma precisão superior (menor DP) e as diferenças em relação ao método manual forem clinicamente aceitáveis para a maioria dos parâmetros, isso pode sugerir que o perfil equino é um ponto de partida viável para a rotina clínica, até que um perfil específico para a espécie seja desenvolvido. Portanto, este estudo se justifica pela necessidade de avaliar a confiabilidade do perfil equino de um analisador hematológico para o processamento de amostras de *Trichechus inunguis*, utilizando o método manual como referência para validar sua aplicabilidade clínica.

2.9 Análises Estatísticas Utilizadas na Validação de Analisadores Hematológicos

A validação de um novo método diagnóstico, como um analisador hematológico automático, contra um método de referência estabelecido exige uma abordagem estatística robusta que vá além da simples correlação. Embora o Coeficiente de Correlação de Pearson seja frequentemente utilizado para avaliar a associação linear entre dois métodos, ele é insuficiente para determinar se os métodos podem ser usados de forma intercambiável, pois uma correlação alta não implica necessariamente em concordância entre os valores medidos (Bland; Altman, 1986).

Para superar essa limitação, a metodologia padrão-ouro para avaliar a concordância é a análise de Bland-Altman. Este método gráfico plota a diferença entre os dois métodos contra a média dos mesmos, permitindo a visualização do viés (bias), que representa o erro sistemático médio, e dos limites de concordância, que definem o intervalo no qual se espera que a maioria das diferenças entre os métodos se encontre. A concordância é considerada clinicamente aceitável se esses limites estiverem dentro de uma margem de erro predefinida como não significativa (Bland; Altman, 1986; Harvey, 2012).

Adicionalmente, para caracterizar a natureza do erro sistemático, são empregadas análises de regressão apropriadas. A regressão linear simples é inadequada para a comparação de métodos, pois assume que o método de referência (eixo X) não possui erro. Portanto, modelos como a Regressão de Deming ou a Regressão de Passing-Bablok são recomendados, pois consideram a imprecisão inerente a ambos os métodos (manual e automático). Essas análises permitem avaliar o erro sistemático constante (através do intercepto) e o erro sistemático proporcional (através da inclinação da reta), fornecendo um diagnóstico completo da relação entre os dois métodos (Harvey, 2012). O uso combinado dessas técnicas estatísticas é preconizado pelas diretrizes do Conselho Internacional para Padronização em Hematologia (ICSH) para a validação rigorosa de analisadores (Briggs et al., 2014).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido com dois peixes-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*) clinicamente saudáveis, sendo um macho filhote e uma fêmea juvenil, com idades de 4 meses e 5 anos, respectivamente. Os animais, resgatados órfãos, encontram-se sob cuidados humanos no Bioparque da Amazônia, localizado em Macapá, Amapá. As dietas foram fornecidas de acordo com a fase de desenvolvimento de cada indivíduo.

3.1 Caracterização dos Animais e Local de Estudo

As amostras de sangue foram coletadas de dois animais de diferentes sexos e faixas etárias, o filhote macho foi identificado como Animal 1 e a fêmea juvenil como Animal 2. O estudo foi conduzido durante 2 meses, acompanhando a rotina de manejo dos animais. As coletas ocorreram no período da manhã, antes da primeira alimentação e durante o manejo de limpeza dos tanques, para minimizar o estresse. A contenção física foi realizada por uma equipe de quatro tratadores e um médico veterinário, com os animais posicionados sobre um colchão umedecido.

Foram coletados 5 mL de sangue por animal, por meio de punção da veia ulnar do plexo braquial, utilizando sistema de coleta a vácuo (Vacutainer), Scalp (21G). As amostras foram acondicionadas em tubos com anticoagulante EDTA K3 e imediatamente armazenadas em caixa térmica a uma temperatura entre 3 °C e 4 °C, conforme estabelecido por Chaves (2022). Posteriormente, as amostras foram transportadas para análise no Hospital Veterinário Municipal, onde foram submetidas à análise automatizada em analisador hematológico GENVET VH20, previamente calibrado para o perfil hematológico de equinos.

Paralelamente às análises de rotina, uma alíquota das amostras foi encaminhada à Clínica Veterinária do Instituto Federal do Amapá (IFAP), campus Porto Grande, para a realização do hemograma completo por método manual, conforme descrito por Thrall et al. (2012). A contagem celular foi efetuada por microscopia óptica, seguindo as técnicas tradicionais para a determinação dos parâmetros eritrocitários e leucocitários.

3.2 Análise Hematológica Automatizada

A análise automatizada foi realizada no Hospital Veterinário Municipal de Macapá, utilizando o analisador hematológico GENVET VH20 (Bio Brasil, 2021). O equipamento foi previamente calibrado e operado no perfil hematológico para equinos.

Este analisador utiliza a tecnologia de impedância elétrica para a contagem e dimensionamento celular e o método colorimétrico sem cianeto para a dosagem de hemoglobina (HGB). O equipamento fornece até 22 parâmetros hematológicos, pode ser pré-programado para mais de 20 espécies animais e realiza a diferenciação leucocitária em três populações (linfócitos, monócitos e granulócitos). A taxa de processamento é de 40 amostras por hora, utilizando um volume de apenas 10 µL de sangue total por análise.

3.3 Análise Hematológica Manual

As amostras encaminhadas à Clínica Veterinária do Instituto Federal do Amapá (IFAP), campus Porto Grande, foram submetidas a análise hematológica manual em duplicata para obter os parâmetros do eritrograma e do leucograma. Para o eritrograma, foram determinados o volume globular (hematócrito) e a contagem total de eritrócitos. O leucograma consistiu na determinação da contagem total de leucócitos e a contagem diferencial de neutrófilos e linfócitos.

Volume Globular (VG): O VG foi determinado pela técnica do micro-hematócrito. O sangue foi centrifugado em tubos capilares a 2500 rpm por cinco minutos e a leitura foi realizada com régua apropriada, com o resultado expresso em porcentagem (%).

Contagem Total de Eritrócitos e Leucócitos: A contagem celular foi feita na câmara de Neubauer (hemocitômetro). As amostras foram diluídas em soluções específicas: solução fisiológica para eritrócitos e solução de Turk para leucócitos. Após a sedimentação celular por 3 minutos, a contagem foi realizada em microscopia óptica (40x), e o número de células por microlitro (µL) foi calculado utilizando a fórmula padrão do hemocitômetro.

Contagem Diferencial de Leucócitos e Morfologia Celular: Foram confeccionados esfregaços sanguíneos em lâminas de vidro, que foram corados com panótico rápido e giemsa. A contagem diferencial de 100 leucócitos foi realizada em microscopia óptica com objetiva de

imersão (100x) para determinar as porcentagens de neutrófilos e linfócitos. A mesma lâmina foi utilizada para a contagem estimada de plaquetas.

3.4 Análise Estatística Descritiva dos Métodos

Devido ao desenho experimental do estudo, que envolve a comparação de dois métodos de análise hematológica – microscopia óptica e analisador automático – aplicados a amostras pareadas provenientes dos mesmos indivíduos, a abordagem estatística ideal para avaliação da concordância entre métodos inclui a Análise de Bland-Altman e a Regressão Linear de Deming. Tais metodologias são amplamente recomendadas em estudos de comparação de procedimentos analíticos, por considerarem a variabilidade entre métodos e a presença de erro de medição em ambas as técnicas avaliadas.

Entretanto, o reduzido tamanho amostral deste estudo ($n = 2$) inviabilizou a aplicação de testes inferenciais robustos, uma vez que essas análises exigem um número substancialmente maior de observações para garantir poder estatístico adequado e a confiabilidade dos intervalos de confiança (Bland; Altman, 1986), (Cornbleet; Gochman, 1979). Dessa forma, optou-se pela realização de análise estatística descritiva, com apresentação de médias, desvios padrão e avaliação qualitativa das diferenças observadas entre os métodos, estratégia considerada apropriada para estudos exploratórios e preliminares em espécies silvestres com limitações amostrais. Para cada parâmetro sanguíneo, os resultados obtidos em duplicata para parâmetro, método e animal foram calculados como Média \pm Desvio Padrão (DP). A comparação entre os métodos foi realizada pela avaliação da Diferença Absoluta entre métodos (Método Manual - Método Automático) para cada par de observações, permitindo a identificação visual das discrepâncias e da precisão (variabilidade intra-método) dos resultados.

4 RESULTADOS

Os valores hematológicos obtidos para os dois peixes-boi amazônicos (*Trichechus inunguis*), analisados por microscopia óptica (método manual) e por analisador hematológico automático calibrado no perfil equino, estão apresentados na Tabela 2. Os resultados são expressos como média \pm desvio padrão (DP) para cada parâmetro avaliado e os animais estão identificados com as numerações 1 e 2, para o filhote macho e a fêmea juvenil, respectivamente.

Tabela 2 - Valores hematológicos de dois peixes-boi amazônicos (*Trichechus inunguis*), obtidos por microscopia óptica (método manual) e por analisador hematológico automático, expressos em média \pm desvio padrão; a diferença corresponde ao valor do método manual subtraído do método automático).

Parâmetro	Animal	Método (Média \pm DP)	Manual	Método Automático (Média \pm DP)	Diferença (Manual-Automático)
Hemácias (10 ⁶ células/ μ L)	1	2.50 \pm 0.07		2.73 \pm 0.02	-0.23
	2	2.80 \pm 0.85		2.25 \pm 0.11	0.55
Hematócrito (%)	1	36.5 \pm 1.5		34.6 \pm 0.25	1.9
	2	35.5 \pm 0.5		27.3 \pm 1	8.2
Estimativa de plaquetas (/ μ L)	1	732000 \pm 214000		322500 \pm 5500	409500
	2	359000 \pm 21000		208700 \pm 32300	150300
Leucócitos (/ μ L)	1	7562.5 \pm 337.5		13505 \pm 1555	-5942.5
	2	8725 \pm 1025		8385 \pm 615	340
Neutrófilos (/ μ L)	1	334 \pm 298		541 \pm 38	-207
	2	173.5 \pm 173.5		331.5 \pm 30.5	-158
Linfócitos (/ μ L)	1	1.425 \pm 396.47		424 \pm 38	1001
	2	4783.5 \pm 1164.5		612 \pm 30	4171.5

Os valores do método manual correspondem à média de duas análises realizadas por coleta. O método automático foi realizado em leitura única, conforme rotina do equipamento.

Fonte: Dados da pesquisa (2025).

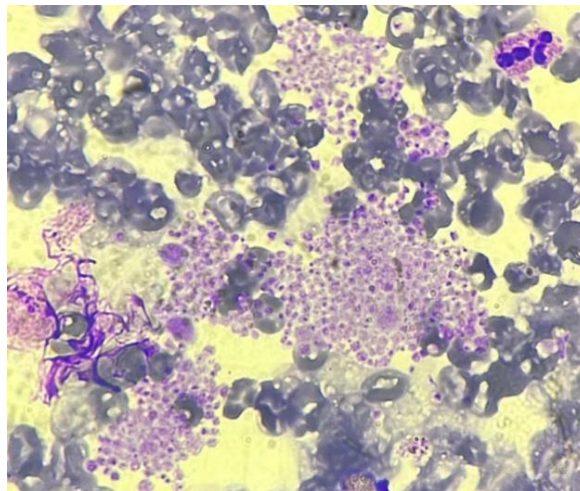
Para a contagem de hemácias (10⁶ células/ μ L), observaram-se diferenças entre os métodos de análise nos dois animais avaliados. No Animal 1, o método automático

apresentou valor ligeiramente superior ao método manual, enquanto no Animal 2 o método manual apresentou maior valor em relação ao automático. As diferenças observadas apresentaram magnitude variável entre os indivíduos.

Em relação ao hematócrito (%), os valores obtidos pelo método manual foram superiores aos registrados pelo método automático em ambos os animais. Essa diferença foi discreta no Animal 1 e mais pronunciada no Animal 2, no qual o método automático apresentou valor consideravelmente inferior ao obtido por microscopia óptica.

A estimativa de plaquetas apresentou as maiores discrepâncias entre os métodos analisados. Em ambos os animais, os valores obtidos pelo método manual foram substancialmente superiores aos fornecidos pelo analisador automático. A diferença absoluta entre os métodos foi mais expressiva no Animal 1, indicando baixa concordância entre as técnicas para esse parâmetro. A presença de agregados plaquetários foi observada em esfregaços sanguíneos analisados por microscopia óptica, conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1- Fotomicrografia de esfregaço sanguíneo de peixe-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*), evidenciando múltiplos agregados plaquetários. Coloração por Panótico Rápido, objetiva de imersão (100×).



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2025).

Para a contagem total de leucócitos (células/ μl), os resultados diferiram entre os métodos e entre os animais avaliados. No Animal 1, o método automático apresentou valor superior ao método manual, resultando em diferença absoluta elevada. No Animal 2, os valores obtidos pelos dois métodos mostraram-se mais próximos, com menor discrepância entre as técnicas.

Quanto aos subgrupos leucocitários, a contagem de neutrófilos (células/ μl) foi maior no método automático para ambos os animais, resultando em diferenças negativas quando

comparado ao método manual. Já a contagem de linfócitos apresentou discrepâncias relevantes entre os métodos, com valores superiores no método manual em ambos os animais, sendo mais acentuado no animal 2.

A análise descritiva dos resultados evidenciou diferenças não apenas nos valores médios, mas também na dispersão dos dados, expressa pelo desvio padrão (DP). De modo geral, o método automático apresentou menores valores de DP para a maioria dos parâmetros avaliados, indicando maior repetibilidade das medições. Em contrapartida, o método manual apresentou maior variabilidade intra-método, sobretudo para a estimativa de plaquetas e para os subgrupos leucocitários, refletindo maior variabilidade intra-método e menor precisão das repetições.

Em síntese, os resultados demonstram variações entre os métodos manual e automático para os diferentes parâmetros hematológicos avaliados, bem como diferenças interindividuais entre os animais analisados, evidenciando comportamentos distintos conforme o parâmetro e a técnica empregada.

5 DISCUSSÃO

A comparação entre métodos diagnósticos constitui etapa fundamental da patologia clínica veterinária, sobretudo em espécies não convencionais, nas quais a validação de equipamentos automatizados ainda é limitada.

De modo geral, os resultados evidenciaram diferenças relevantes entre os métodos manual e automático, tanto em termos de valores médios quanto de precisão analítica, indicando que os métodos não são intercambiáveis para diversos parâmetros hematológicos avaliados.

A avaliação da precisão, expressa pelo desvio padrão (DP) das repetições, demonstrou que o método automático apresentou menor variabilidade intra-método, refletindo maior repetibilidade, resultado esperado para sistemas automatizados. Em contraste, o método manual apresentou DPs mais elevados, especialmente para neutrófilos, linfócitos e estimativa de plaquetas, evidenciando maior influência de fatores operacionais, como habilidade do avaliador e heterogeneidade da amostra.

Apesar da maior precisão observada no método automático, as diferenças absolutas entre os métodos foram expressivas para parâmetros como contagem total de leucócitos e, principalmente, estimativa de plaquetas. Essas discrepâncias indicam baixa concordância, reforçando que maior precisão não implica, necessariamente, maior exatidão ou equivalência entre métodos, conforme descrito na literatura de comparação metodológica (Castilho, 2006).

A discrepância observada para a contagem de plaquetas pode ser explicada, em parte, pela morfologia celular peculiar dos sirênios, já descrita para *T. inunguis*, incluindo plaquetas com tendência à agregação e hemácias de maior dimensão quando comparadas às de mamíferos terrestres (Carmo, 2009; Souza, 2016; Colares, 2011), como cães e equinos, e até mesmo de outros mamíferos aquáticos (Stacy, 2022). A principal distinção reside na série vermelha, onde os peixes-boi exibem macrocitose fisiológica, com Volume Corpuscular Médio (VCM) elevado (85–110 fL), contrastando com o VCM médio de cães (60–77 fL) e o VCM baixo de equinos (37–55 fL) (Sousa, 2016; Harvey, 2012; Walton, 2013). Essas características podem interferir nos princípios físicos utilizados pelos analisadores automáticos, baseados em impedância elétrica ou dispersão óptica, especialmente quando o equipamento não possui calibração específica para a espécie.

Ao comparar os resultados obtidos com os valores de referência descritos para *T. inunguis*, observou-se que os parâmetros eritrocitários, como contagem de hemácias e hematócrito, apresentaram maior concordância com os dados previamente publicados, sobretudo quando analisados pelo método manual. Esses achados estão de acordo com os valores descritos por Rosas et al. (1999), Carmo (2009) e Souza (2016), reforçando a confiabilidade do método microscópico para a avaliação do eritrograma na espécie.

De forma complementar, ao se comparar os resultados com os intervalos de referência estabelecidos para o peixe-boi antillano (*Trichechus manatus manatus*) por Mignucci-Giannoni et al. (2022), observa-se que os parâmetros eritrocitários mantêm padrões semelhantes entre as espécies. Essa similaridade pode ser explicada pela proximidade genética entre os sirênios, incluindo registros de hibridação natural entre *T. inunguis* e *T. manatus* na região estuarina amazônica (Noronha et al., 2022), sugerindo relativa conservação fisiológica desses parâmetros.

Em contrapartida, os parâmetros leucocitários e plaquetários apresentaram maior variabilidade e menor concordância com os valores de referência, especialmente quando obtidos por análise automatizada. Esses resultados indicam que tais parâmetros são mais suscetíveis a interferências metodológicas e reforçam a necessidade de cautela na interpretação clínica dos dados.

Além das limitações metodológicas, fatores biológicos e ambientais devem ser considerados na interpretação dos resultados. Estudos demonstram que idade, condições de cativeiro, manejo e estado fisiológico influenciam significativamente os parâmetros hematológicos e bioquímicos em *T. inunguis* (Souza, 2016; Rego et al., 2022). Ademais, variações sazonais e ambientais podem impactar esses parâmetros, conforme descrito por Colares (2011), sendo esperadas diferenças interindividuais em populações mantidas sob diferentes condições. O estresse inerente ao manejo, contenção e transporte de peixes-boi pode induzir uma resposta fisiológica ao estresse, mediada pela liberação de glicocorticoides, pode resultar em um leucograma de estresse característico, que em mamíferos é tipicamente manifestado por neutrofilia, linfopenia, eosinopenia e, por vezes, monocitose. Em peixes-boi, o estresse de manejo tem sido associado a aumentos nos níveis séricos de glicose, creatina quinase (CK) e aspartato aminotransferase (AST), que servem como marcadores biológicos de estresse e dano muscular decorrente da contenção (Carmo, 2013; Kaneko, 2008; Mignucci-Giannoni et al., 2022).

Considerando que o peixe-boi amazônico ocupa ambientes aquáticos de elevada variabilidade ecológica e apresenta status de conservação preocupante, a interpretação integrada dos dados hematológicos torna-se essencial para o manejo clínico e conservacionista da espécie (Souza, 2024).

Algumas limitações devem ser consideradas na interpretação dos resultados. O reduzido tamanho amostral ($n = 2$ animais) impossibilitou a aplicação de análises estatísticas robustas, como a Regressão Linear de Deming ou a análise de Bland-Altman, amplamente recomendadas para estudos de comparação entre métodos (Castilho, 2006). Dessa forma, optou-se por uma abordagem descritiva, que permite a observação de tendências, mas não inferências estatísticas formais.

Adicionalmente, o transporte das amostras sanguíneas entre Macapá e Porto Grande pode ter contribuído para alterações pré-analíticas, potencialmente interferindo na qualidade das amostras. Observou-se ainda a presença de agregados plaquetários em algumas amostras, o que pode ter dificultado ou superestimado a contagem manual de plaquetas. As contagens diferenciais de leucócitos foram realizadas por dois avaliadores, o que, embora reduza viés individual, pode introduzir variabilidade interobservador. Ademais, algumas amostras apresentaram leve hemólise do processo de centrifugação dos capilares de micro-hematócrito, a qual pode ter influenciado discretamente os valores de hematócrito.

Uma limitação adicional refere-se ao funcionamento do analisador hematológico GENVET VH20, que não forneceu valores individuais para monócitos, eosinófilos e basófilos. Em vez disso, o equipamento forneceu o parâmetro MID%, que engloba monócitos, eosinófilos e basófilos em um único grupo celular, o que limita a interpretação clínica isolada desse dado, especialmente em condições associadas a inflamação crônica, parasitismo ou respostas alérgicas. Tal agrupamento representa uma limitação tecnológica do equipamento, comum a analisadores veterinários de três populações leucocitárias, reforçando a necessidade da avaliação morfológica em esfregaço sanguíneo como complemento indispensável à análise automatizada.

Em síntese, o analisador hematológico automático calibrado para o perfil equino demonstrou maior precisão analítica, porém apresentou baixa concordância com o método manual para diversos parâmetros hematológicos em *Trichechus inunguis*. Esses achados reforçam que, para espécies não-modelo, a análise automatizada deve ser interpretada com

cautela e sempre acompanhada da avaliação microscópica em lâmina, especialmente diante de resultados discrepantes ou alertas do equipamento.

O presente estudo evidencia a necessidade de amostragens mais amplas e do desenvolvimento de perfis de calibração específicos para o peixe-boi amazônico, contribuindo para diagnósticos clínicos mais precisos, protocolos laboratoriais mais confiáveis e para o avanço do conhecimento hematológico dessa espécie de importância ecológica e conservacionista.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu comparar, de forma descritiva, os resultados do hemograma de peixe-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*) obtidos por microscopia óptica e por analisador hematológico automático calibrado no perfil equino. Os achados demonstraram que, embora o método automático apresente maior precisão analítica, evidenciada por menor variabilidade nas repetições, houve baixa concordância com o método manual para diversos parâmetros hematológicos, especialmente no leucograma e na estimativa de plaquetas.

Os parâmetros eritrocitários apresentaram maior proximidade com os valores de referência descritos na literatura, sobretudo quando avaliados pelo método manual, reforçando sua confiabilidade para a espécie. Por outro lado, as discrepâncias observadas nos parâmetros leucocitários e plaquetários indicam que o analisador automático, quando utilizado sem calibração específica para *T. inunguis*, não deve ser empregado como método único de avaliação hematológica.

Dessa forma, conclui-se que a utilização de analisadores hematológicos automáticos em peixes-boi amazônicos deve ser sempre acompanhada da conferência manual em microscopia óptica, especialmente diante de resultados discrepantes ou da presença de alertas emitidos pelo equipamento. Além disso, o estudo reforça a necessidade de pesquisas com maior número amostral e do desenvolvimento de perfis de calibração específicos para a espécie, contribuindo para diagnósticos mais precisos, protocolos laboratoriais mais confiáveis e para o avanço da medicina veterinária aplicada à conservação do peixe-boi-da-Amazônia. Esses achados contribuem para o aprimoramento do manejo clínico e laboratorial de *Trichechus inunguis* em programas de reabilitação e conservação.

REFERÊNCIAS

- BEST, R.C., RIBEIRO, G.A., YAMAKOSHI, M. & DA SILVA, V.M.F. 1982. **Artificial feeding for unweaned Amazonian manatees**. *Int. Zoo Yearb.* 22(1):263-267.
- BEST, R.C. 1983. **Apparent Dry-Season Fasting in Amazonian Manatees (Mammalia: Sirenia)**. *Biotropica* 15(1):61-64.
- BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. **Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement**. *The Lancet*, v. 327, n. 8476, p. 307-310, 1986.
- BODMER, D. A. T.; MARMONTEL, M.; REYNOLDS, J. E. (ed.). **Sirenian Biology and Conservation**. Gainesville: University Press of Florida, 2023.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 166, de 24 de julho de 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e outros procedimentos analíticos aplicáveis aos insumos farmacêuticos ativos, medicamentos e produtos biológicos em todas as fases de produção. *Diário Oficial da União: seção 1*, Brasília, DF, 25 jul. 2017.
- BRIGGS, C.; CULP, N.; et al. **International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for the validation, verification, and quality control of automated haematology analysers**. *International Journal of Laboratory Hematology*, [S. l.], v. 36, n. 5, p. 499-511, 2014.
- CAGLE, L. A. et al. **Cytochemical staining of leukocytes and platelets in the Florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*): identification of a bilobed monocyte similar to other members of Afrotheria**. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 10, 2023.
- CARMO, T. M. **Aspectos hematológicos do peixe-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2009.
- CASTELLINI, M. A. **Blood rheology in marine mammals**. *Frontiers in Physiology*, v. 1, p. 1–10, 2010.
- CASTILHO, M. R. **Avaliação estatística de métodos analíticos em patologia clínica**. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 42, n. 5, p. 345–352, 2006.
- COLARES, I. G. **Aspectos fisiológicos e hematológicos de sirênios amazônicos**. Belém: UFPA, 2011.
- CHAVES, R. C. et al. **Avaliação hematológica de *Trichechus inunguis* em cativeiro no Pará**. *Acta Amazonica*, v. 52, n. 2, p. 123–131, 2022.
- COMMITTEE ON TAXONOMY. **List of Marine Mammal Species and Subspecies**. Society for Marine Mammalogy, 2023. Disponível em: <https://marinemammalscience.org/science-and-publications/list-of-marine-mammal-species-subspecies/>. Acesso em: 31/07/2025
- GULLAND, F. M. D.; DIERAUF, L. A.; WHITMAN, K. L. (ed.). **CRC Handbook of Marine Mammal Medicine**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2018.

HARVEY, J. W. **Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide**. 1. ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2012.

HARVEY, J. W. et al. **Hematology of healthy Florida manatees (*Trichechus manatus*)**. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n. 2, p. 183–193, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Plano de ação para a conservação dos mamíferos aquáticos do Brasil**. Brasília: IBAMA, 2001.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume II – Mamíferos**. Brasília: ICMBio, 2018.

JEFFERSON, T. A.; LEATHERWOOD, S.; WEBBER, M. A. **Marine mammals of the world**. Rome: FAO, 1993.

LIMA, R. P.; MARMONTEL, M.; BONVICINO, C. R. **Hybridization between *Trichechus inunguis* and *Trichechus manatus* in the Amazon estuary**. *Conservation Genetics*, v. 20, p. 1121–1132, 2019.

MARMONTEL, M.; KENDALL, S.; O'SHEA, T. J. ***Trichechus inunguis*. The IUCN Red List of Threatened Species**, 2016.

MIGNUCCI-GIANNONI, A. A.; ALSINA-GUERRERO, M. **Blood reference intervals for Antillean manatees (*Trichechus manatus manatus*) from Puerto Rico: hematology and blood chemistry**. *Veterinary Medicine International*, 2022.

MIRANDA, L. L. **Validação do analisador hematológico automático BC-2800 Vet® para realização de hemogramas de muare**s. 2014. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

MOYA, D. **Hematologia aplicada à clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2022.

OLIVEIRA, M. F. et al. **Hematologic values of captive Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*)**. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 36, n. 1, p. 43-46, 2007.

OLIVEIRA, L. R. et al. **Genetic evidence of hybridization in Amazonian manatees**. *Marine Mammal Science*, v. 38, n. 3, p. 845–860, 2022.

REYNOLDS, J. E.; ROMMEL, S. A. **Structure and function of the gastrointestinal tract of the Florida manatee, *Trichechus manatus latirostris***. In: REYNOLDS, J. E.; ROMMEL, S. A. (ed.). *Biology of Marine Mammals*. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press, 1999. p. 289-303.

ROSAS, F. C. W. **Biologia e conservação dos sirênios**. Manaus: INPA, 1994.

ROSAS, F. C. W.; MARMONTEL, M.; REEVES, R. R. **Hematological parameters of manatees**. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 35, p. 121–129, 1999.

SCHOLANDER, P. F. **The respiratory function of the blood in marine mammals.** Hvalrådets Skrifter, v. 22, p. 1–131, 1940.

SILVA, C. R.; MARTINS, A. C. M.; CASTRO, Isaí J.; CARDOSO, E. M. **Guia de mamíferos do Estado do Amapá.** Macapá: IEPA, 2012.

SILVA, L. C. de S. M. e; LUNA, F. O.; et al. **Rehabilitation and release of a stranded Antillean manatee in Brazil.** *Latin American Journal of Aquatic Mammals*, [S. l.], v. 7, n. 1-2, p. 55-60, 2012.

SOUSA, I. K. F. et al. **Variáveis hematológicas e bioquímicas de peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) jovens.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 36, n. 9, p. 869–874, 2016.

SOUSA-LIMA, R. S.; PAGLIA, A. P.; FONSECA, G. A. B. da. **Signature information and individual recognition in the isolation calls of Amazonian manatees, *Trichechus inunguis* (Mammalia: Sirenia).** *Animal Behaviour*, [S. l.], v. 63, n. 2, p. 301-310, 2002.

SOUZA, A. C. A. **Parâmetros hematológicos e bioquímicos do peixe-boi-da-Amazônia em cativeiro.** 2016. Tese (Doutorado em Biologia Animal) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2016.

SOUZA, D. A. de; GONÇALVES, A. L. S.; VON MÜHLEN, E. M.; SILVA, V. M. F. da. **Estimating occupancy and detection probability of the Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*), in Central Amazon, Brazil.** *Global Ecology and Conservation*, [S. l.], v. 49, p. e02798, 2021.

SOUZA, D. A. et al. **Ecologia, conservação e desafios atuais do peixe-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*).** *Journal of Aquatic Mammals*, 2024.

STACY, N. I.; NOLLENS, H. H. **Hematology of marine mammals.** In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (ed.). *Schalm's veterinary hematology*. 7. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2022.

STAEHLER, J. **Validação da metodologia óptica para contagem de eritrócitos e dosagem de hemoglobina no analisador Sysmex-XN.** 2021. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2021.

THRALL, Mary Anna; WEISER, Glade; ALLISON, Robin W.; CAMPBELL, Terry W. **Hematologia veterinária e química clínica.** 2. ed. São Paulo: Roca, 2012.

WALTON, R. M. **Equine clinical pathology.** Hoboken: Wiley-Blackwell, 2013.