

A importância da microscopia e da confecção do microhematócrito na avaliação hematológica em Medicina Veterinária

The importance of microscopy and the preparation of the microhematocrit in hematological evaluation in Veterinary Medicine

Recebimento dos originais: 31/01/2022

Aceitação para publicação: 28/02/2022

Ana Elisa Barros Medeiros

Instituição: Departamento de Medicina Veterinária/ Universidade Federal de Juiz de Fora
Endereço: R. Espírito Santo, 993 - Centro, Juiz de Fora - MG
E-mail: anamedeiros.aem@gmail.com

Isabella Watson de Mattos Lence

Instituição: Departamento de Medicina Veterinária/ Universidade Federal de Juiz de Fora
Endereço: R. Espírito Santo, 993 - Centro, Juiz de Fora - MG
E-mail: isa.lence@hotmail.com

João Paulo Ambrosio da Silva

Instituição: Departamento de Medicina Veterinária/ Universidade Federal de Juiz de Fora
Endereço: R. Espírito Santo, 993 - Centro, Juiz de Fora - MG
E-mail: jpambrosiods@gmail.com

Juliana Imbroisi Cunha da Costa

Instituição: Departamento de Medicina Veterinária/ Universidade Federal de Juiz de Fora
Endereço: R. Espírito Santo, 993 - Centro, Juiz de Fora - MG
E-mail: imbroisijuliana@gmail.com

Carina Franciscato

Instituição: Departamento de Medicina Veterinária/ Universidade Federal de Juiz de Fora
Endereço: R. Espírito Santo, 993 - Centro, Juiz de Fora - MG
E-mail: carinafranciscato@yahoo.com.br

RESUMO

A avaliação hematológica é uma importante ferramenta de diagnóstico dentro da Medicina Veterinária. Com o advento e avanço dos aparelhos automatizados, as análises passaram a ser realizadas de forma mais rápida e precisa. Contudo, esses equipamentos não são isentos de erros, sendo indispensável a realização de análises manuais, como a microscopia e o microhematócrito. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão da literatura científica destacando as limitações dos aparelhos automatizados, assim como a importância das análises manuais na Medicina Veterinária. Apesar dos avanços tecnológicos, os aparelhos automatizados podem fornecer resultados imprecisos quando a morfologia celular foge dos padrões, como em casos de macroplaquetas e eritrócitos nucleados. A presença de coágulos, agregados plaquetários e hemácias aglutinadas também podem interferir nos resultados. Todas essas alterações podem ser visualizadas em técnicas manuais, assim como características do plasma e a presença de hemoparasitos e inclusões celulares, destacando a importância da realização das mesmas.

Palavras-chave: hemograma, aparelhos automatizados, esfregaço sanguíneo.

ABSTRACT

Hematological evaluation is an important diagnostic tool in veterinary medicine. With the advent and advancement of automated devices, the analyses started to be performed in a faster and more precise way. However, this equipment is not error-free, and manual analyses such as microscopy and microhematocrit are indispensable. The objective of this study was to perform a review of the scientific literature highlighting the limitations of automated devices, as well as the importance of manual analysis in Veterinary Medicine. Despite the technological advances, automated devices can provide inaccurate results when cell morphology deviates from the standards, as in cases of macroplaketes and nucleated erythrocytes. The presence of clots, platelet aggregates, and agglutinated RBCs can also interfere with the results. All these alterations can be visualized in manual techniques, as well as characteristics of the plasma and the presence of hemoparasites and cellular inclusions, highlighting the importance of performing them.

Keywords: CBC, automated devices, blood smear.

1 INTRODUÇÃO

O hemograma pode ser definido como uma forma de organizar e resumir informações básicas e avançadas, obtidas a partir da análise hematológica que avalia quantitativa e qualitativamente os elementos sanguíneos (CARMO et al., 2020), seja por meio de mensurações diretas como o volume globular, proteínas plasmáticas, concentração de hemoglobina, eritrócitos, leucócitos e plaquetas e volume corpuscular médio, ou através de procedimentos microscópicos como a morfologia eritrocitária e plaquetária, contagem diferencial de leucócitos e reticulócitos, apurando dados para a classificação das alterações de hemácias, plaquetas e células brancas (THRALL et al., 2015).

Atualmente, com a evolução tecnológica foram desenvolvidos sistemas automatizados para avaliação hematológica, os quais trouxeram uma grande precisão nos resultados em um pequeno espaço de tempo, sendo muito úteis na realização dos exames laboratoriais. Estes equipamentos tem a capacidade de avaliar muitos parâmetros no processamento de um hemograma, para diferentes espécies animais (SANTOS & LEME, 2021).

Entretanto, os referidos sistemas não são totalmente isentos de erro, pois aparelhos não calibrados, problemas elétricos ou mecânicos podem interferir na qualidade dos resultados das análises. Problemas pré-analíticos, como a presença de microcoágulos ou hemólise também causarão modificações no exame (BANDEIRA et al., 2014). Além disso, alterações como inclusões celulares, não serão detectadas por tais aparelhos automáticos (SANTOS et al., 2014).

Em virtude de situações como estas, que mostram a inexatidão em contagens automatizadas em relação às realizadas em microscópio, destaca-se a relevância do exame microscópico do esfregaço sanguíneo e da avaliação do microhematócrito, capazes de detectarem anemias e classificá-las, de identificarem alterações morfológicas celulares, de reconhecerem inclusões celulares, de revelarem a

presença de hemoparasitos entre outras alterações fundamentais que devem ser observadas no exame hematológico (BERNARDO et al., 2016; CARMO et al., 2020).

2 OBJETIVO

Realizar uma pesquisa bibliográfica sobre os métodos analíticos de sistemas automáticos de avaliação hematológica e mostrar as limitações destes, destacando a importância da observação microscópica do esfregaço sanguíneo e da avaliação do microhematócrito na realização de hemogramas em Medicina Veterinária.

3 METODOLOGIA

Realizou-se uma revisão de literatura em bibliotecas virtuais, como: Scielo, Pubmed, Scopus e Periódicos CAPES, em busca de artigos científicos, dissertações e teses. As referências utilizadas abrangeram um intervalo entre os anos de 2009 a 2021. Nas buscas foram empregadas as palavras-chave: hemograma, aparelho hematológico automático, impedância, microscopia e “hematology analyzers”.

Com base na revisão bibliográfica, descreveu-se, resumidamente, o funcionamento de alguns tipos de equipamentos hematológicos automatizados, bem como as alterações hematológicas que podem interferir erroneamente nos resultados das análises, mostrando como estas modificações podem ser reconhecidas.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 IMPEDÂNCIA

Um dos princípios bastante empregados atualmente nos analisadores hematológicos automáticos para a contagem das células é o princípio da impedância. Esse processo é baseado na diferença de condução elétrica, visto que as hemácias são pobres em relação à condução de eletricidade e os diluentes utilizados possuem alta condutibilidade. Então, dois eletrodos de platina ficam imersos, um no interior do equipamento e outro no líquido com os componentes a serem contados, com separação feita por um orifício de 60 a 100 micrometros de diâmetro. Assim, no momento da passagem de cada partícula pelo mesmo é deslocado um volume de líquido, gerando alteração de forma mensurável na impedância proporcional a tal volume deslocado (SANTOS & LEME, 2021).

4.2 MENSURAÇÃO DA HEMOGLOBINA E CONTAGEM DE LEUCÓCITOS

A concentração de hemoglobina por aparelhos automáticos é obtida através da diluição da amostra sanguínea, seguida da adição do reagente lauril sulfato de sódio (SLS). Este não causa lise nas células

nucleadas, preservando sua estrutura e seus componentes dentro da célula, mas lisa os eritrócitos, liga-se ao grupo heme e forma um complexo colorido (SLS-Hb), que é quantificado por método fotométrico, proporcionalmente à concentração de hemoglobina na amostra, a qual é expressa em g/dl (GRILO, 2016).

A mesma amostra de sangue adicionada ao agente lítico é utilizada para a contagem de leucócitos. Essa substância rapidamente lisa ou dissolve as membranas citoplasmáticas, deixando, dessa maneira, os eritrócitos e as plaquetas “invisíveis” às tecnologias de detecção totais (THRALL et al., 2015).

A contagem total de glóbulos brancos com a tecnologia de impedância é, na verdade, uma contagem total de células nucleadas (DeNICOLA, 2011). Sendo assim, outras células nucleadas, como metarrubricitos, podem distorcer a contagem total de leucócitos, porque os núcleos de leucócitos e eritrócitos nucleados não são diferenciados (BACALL, 2009).

5 DISCUSSÃO

Os sistemas automatizados de contagem são ferramentas de grande importância atualmente, principalmente devido ao menor tempo para a realização das análises. Apesar de serem práticos e cada vez mais utilizados por laboratórios veterinários, esses equipamentos podem cometer erros em suas análises em decorrência de variações nos padrões celulares. Equipamentos que utilizam o princípio da impedância podem ser incapazes de distinguir hemácias pequenas de plaquetas ou, então, macroplaquetas de hemácias, gerando imprecisões na contagem. Amostras sanguíneas de gatos são mais susceptíveis a esse tipo de erro, visto que suas plaquetas apresentam maiores variações de tamanho (DeNICOLA, 2011). A morfologia plaquetária, assim como a presença de aglomerados plaquetários, podem ser observadas em esfregaços sanguíneos (BANDEIRA et al., 2014), o que ressalta a importância da microscopia na avaliação hematológica.

Assim, um dos parâmetros a serem cuidadosamente avaliados é a contagem de plaquetas, que pode ser comprometida em aparelhos automatizados, com valores subestimados em situações em que as células não são lidas pelo aparelho. Tal fato acontece caso haja macroplaquetas, plaquetas gigantes e agregados plaquetários. Os resultados podem também ser superestimados na presença de fragmentos eritrocitários, fragmentos citoplasmáticos de células leucêmicas, micrócitos com volume próximo ao limite de corte, lipemia, bactérias e leveduras, sendo essencial, portanto, a observação do esfregaço sanguíneo (COMAR et al., 2009).

A presença de coágulos nas amostras pode causar alterações nos resultados do hematócrito, gerando uma falsa diminuição no número de hemácias. No método de impedância os coágulos podem interferir na correta amostragem ou obstruir os orifícios e tubulações do equipamento. Os microcoágulos podem

interferir inclusive com o microhematócrito, uma vez que podem gerar compactação incompleta da amostra (BANDEIRA et al., 2014).

A aglutinação é outra alteração que pode interferir nos resultados do hematócrito, gerando uma contagem falsamente baixa de hemácias por impedância, pois as hemácias aglutinadas podem ser contadas como uma única hemácia grande, ou serem desconsideradas na contagem. Portanto, em casos de aglutinação, o microhematócrito é capaz de fornecer uma estimativa mais acurada e precisa do volume de eritrócitos (DeNICOLA, 2011).

Após a centrifugação do capilar de microhematócrito, um dos parâmetros a ser avaliado é a coloração do plasma, onde pode-se observar alterações como icterícia, lipemia ou hemólise (THRALL et al., 2015). A presença destas duas últimas **ocasionará erro na mensuração de hemoglobina pelos equipamentos automáticos** (NIKOLAC, 2014; DeNICOLA, 2011).

Outra avaliação possível com a realização do microhematócrito é da proteína plasmática total (PPT), através do refratômetro. Em situações em que a PPT estiver aumentada, pode ser indicativo de desidratação, aumento de globulina em casos de Erliquiose e Leishmaniose. Já a hipoproteinemia ocorre em casos de deficiência de albumina, hemodiluição em animais muito hidratados ou em hemorragias (THRALL et al., 2015).

Apesar dos avanços tecnológicos, o microhematócrito permanece como uma técnica extremamente acurada, precisa e rápida para a determinação do volume eritrocitário, podendo ser empregado inclusive para validar a performance de sistemas automatizados, nos quais o volume globular (VG) é calculado a partir do volume e da população de eritrócitos presente na amostra (DeNICOLA, 2011).

Com a confecção de um capilar de hematócrito, pode-se obter a capa flogística ou leucocitária, a partir da qual é possível fazer um esfregaço para facilitar a identificação de hemoparasitos (THRALL et al., 2015). Além disso, a observação microscópica do referido capilar, na região inicial do plasma, é uma das técnicas utilizadas na pesquisa de *Trypanosoma* spp. (Técnica do Microhematócrito ou Técnica de Woo) (BASTOS et al., 2015).

A contagem diferencial leucocitária automatizada não é tão perfeita nos animais domésticos como é nos seres humanos, devendo ser realizada microscopicamente, pois alguns autores já descreveram a incapacidade de contadores automáticos fazerem a distinção entre os diferentes tipos de leucócitos (SANTORO, 2018). Deve-se atentar para casos de leucocitose ou leucopenia, visto que os valores podem se apresentar superestimados ou subestimados devido a presença de interferentes, como eritrócitos nucleados, hemácias não lisadas e plaquetas gigantes. Além disso, apenas com a avaliação microscópica é viável a observação de desvios à esquerda e, logo, da resposta medular do indivíduo frente à inflamação (BANDEIRA et al., 2014).

A tecnologia eletrônica também não favorece a identificação de hemoparasitos, nem de inclusões virais como corpúsculos de Lentz (THRALL et al., 2015). Assim, a análise microscópica é essencial quando se pretende realizar pesquisa de parasitos sanguíneos, bem como quando se quer identificar inclusões em células sanguíneas.

6 CONCLUSÕES

A realização da avaliação microscópica das amostras sanguíneas, bem como a observação do microhematócrito, são de extrema relevância para uma correta interpretação de resultados e obtenção do diagnóstico precoce de doenças, o que muitas vezes é inviável em exames realizados de maneira automática, afinal, os equipamentos não possuem a capacidade de detectar alterações preponderantemente morfológicas.

REFERÊNCIAS

- BACALL, Nydia S. Analisador automático hematológico e a importância de validar novos equipamentos em laboratórios clínicos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.31, n.4, p. 218-220, 2009.
- BANDEIRA, Ricardo; MAGALHÃES, Andressa Figueiredo; AQUINO, Hugo Bastos da Silva. interpretação dos critérios de liberação dos resultados de hemograma através de contadores automatizados em laboratório de urgência. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 7, n. 3, p. 403-408, 2014.
- BASTOS, T. S. A. *et al.* Detecção de *Trypanosoma vivax* por diferentes técnicas de diagnóstico parasitológico realizadas à campo. **ARS Veterinaria**, v.31, n.2, p.40, 2015.
- BERNARDO, Fábio D. *et al.* Importance of blood smear in the distinction of hemoparasites: A case report of anaplasmosis. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.10, n.2, p. 290-296, 2016.
- CARMO, B. M. B. *et al.* Hemograma completo: ferramenta de diagnóstico na medicina veterinária. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 49989-49994 jul. 2020.
- COMAR, Samuel R. *et al.* Contagem de plaquetas: avaliação de metodologias manuais e aplicação na rotina laboratorial. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 6, p. 431-436, 2009.
- DeNICOLA, Dennis B. **Advances in Hematology Analyzers. Topics in Companion Animal Medicine. v. 26, n. 2, p. 52-61, 2011.**
- GRILO, Katia Teixeira de Meiroz. **Determinação da concentração de hemoglobina livre em concentrado de hemácias pela espectrofotometria direta: método de Harne.** Dissertação, Universidade de São Paulo, 2016.
- NIKOLAC, Nora. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. **Biochemia Medica**, v. 24, p. 57-67, 2014.
- SANTORO, Pasquale. Manual methods vs automated hematology analyzers in veterinary hematology. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 47, n. 2, p. 178-178, 2018.
- SANTOS, Fabiano de Jesus; FIGUEIRA, Dayse de Oliveira; SOUZA, Joyce Eliza de Oliveira. Prevalence of discordant microscopic changes with automated CBC analysis. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 50, n. 6, p. 398-401, 2014.
- SANTOS, Lucas B.C.; LEME, Fabiola O.P. Comparação entre metodologias analíticas para a realização de hemogramas em Medicina Veterinária. **Revista V & Z em Minas**, n148, p.29-37, 2021.
- THRALL, Mary Anna *et al.* **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2ª edição. São Paulo: Roca, 2015. 688p.**