

PROGRAMA DE EDUCAÇÃO CONTINUADA A DISTÂNCIA
Portal Educação

CURSO DE
**INTERPRETAÇÃO DE HEMOGRAMA
EM MEDICINA VETERINÁRIA**



Portal Educação

Aluno:

EaD - Educação a Distância Portal Educação



Portal Educação

CURSO DE **INTERPRETAÇÃO DE HEMOGRAMA EM MEDICINA VETERINÁRIA**

MÓDULO IV

Atenção: O material deste módulo está disponível apenas como parâmetro de estudos para este Programa de Educação Continuada. É proibida qualquer forma de comercialização ou distribuição do mesmo sem a autorização expressa do Portal Educação. Os créditos do conteúdo aqui contido são dados aos seus respectivos autores descritos nas Referências Bibliográficas.

MÓDULO IV

25 COLETA DA AMOSTRA

A coleta de uma amostra de sangue é tão importante quanto a realização do exame em si, pois uma coleta mal feita pode levar à rejeição da amostra por um laboratório ou pela obtenção de resultados não confiáveis. Além disso, a coleta de sangue é considerada um procedimento cirúrgico por muitos autores, devendo ser tratada como tal. O nome técnico para a punção de uma veia é flebotomia.

Nas coletas para hemograma, uma coleta demorada pode levar à coagulação do sangue, interferindo na contagem de células, ou até mesmo levar à formação de coágulos de fibrina (Figura 85), que interferem na dosagem do fibrinogênio; e ainda há a hemólise provocada durante a coleta ou pelo acondicionamento inadequado do sangue, interferindo na contagem de hemácias e na avaliação do índice icterico.

FIGURA 85 - COÁGULO SANGUÍNEO (ESQUERDA) E DE FIBRINA (DIREITA) EM AMOSTRAS DE SANGUE



FONTE: Disponível em: <<http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/restrito/fotos/fibrina.jpg>>.
Acesso em: 18 fev. 2009.

Diferentes materiais podem ser utilizados na coleta de sangue (Tabela 9), para isso deve-se conhecer a espécie animal da qual o sangue será coletado, definir se a coleta será com ou sem vácuo, e a finalidade da amostra. Atualmente, observa-se uma substituição gradual dos materiais sem vácuo por materiais a vácuo e principalmente dos materiais reutilizáveis pelos descartáveis.

TABELA 9 - MATERIAIS UTILIZADOS NAS COLETAS DE SANGUE

Material	Visualização	Observações
Garrote	 <p>FONTE: Disponível em: <http://www.brindesgrafica.com.br>. Acesso em: 18 fev. 2009.</p>	Feitos de borracha e colocados acima do local a ser puncionado. Nas punções da veia jugular ou em grandes animais pode ser feito manualmente.
Algodão ou gazes	 <p>FONTE: Disponível em: <http://portuguese.alibaba.com>. Acesso em: 18 fev. 2009.</p>	Utilizados para assepsia do local a ser puncionado, retirando o excesso de álcool e assentando o pelame do animal.
Álcool 70% ou álcool iodado	 <p>FONTE: Disponível em: <http://www.realpurissimo.com.br>. Acesso em: 18 fev. 2009.</p> <p>FONTE: Disponível em: <http://www.lapon.com.br>. Acesso em: 18 fev. 2009.</p>	Utilizados para assepsia do local a ser puncionado. Devido à estética, muitos proprietários preferem a utilização do álcool 70%, pois este não mancha o pelo do animal.
Seringas de 3 ou 5 ml	 <p>FONTE: Disponível: <http://www.bd.com>. Acesso em: 18 fev. 2009.</p>	Utilizada em coletas sem vácuo. O volume da seringa varia com o tamanho da amostra necessária para o exame.

<p>Agulha hipodérmica</p>	 <p>FONTE: Disponível em: <http://www.bd.com>. Acesso em: 18 fev. 2009.</p>	<p>Utilizada em coletas sem vácuo. Em pequenos animais, utilizam-se as de canhão preto ou verde, enquanto em grandes animais utilizam-se mais a de canhão rosa. A cor do canhão define o calibre da agulha (Figura 86).</p>
<p>Tubos</p>	 <p>FONTE: Disponível em: <http://www.dpcmedlab.com.br>. Acesso em: 18 fev. 2009.</p>	<p>Podem ser de vidro ou plástico, com ou sem vácuo, utilizados conforme o destino da amostra de sangue e o tipo de coleta, respectivamente.</p>
<p>Agulha para coleta a vácuo</p>	 <p>FONTE: Disponível em: <http://www.dpcmedlab.com.br>. Acesso em: 18 fev. 2009.</p>	<p>Assim como as agulhas hipodérmicas, possuem variação de calibre, que deve ser verificada antes da coleta.</p>
<p>Adaptador para coleta a vácuo</p>	 <p>FONTE: Disponível em: <http://www.bd.com>. Acesso em: 18 fev. 2009.</p>	<p>Utiliza-se acoplado à agulha (extremidade anterior) e ao tubo para coleta a vácuo (extremidade posterior).</p>

TABELA 10 - CALIBRES DAS AGULHAS HIPODÉRMICAS E A COR DO CANHÃO

Tabela de Medidas de Agulhas			
Métrico (mm)	Gauge/ Polegadas	Cor do Canhão <small>A cor do canhão define o diâmetro da agulha</small>	
1,60 x 40	16G 1 1/2		Branco
1,20 x 25 1,20 x 40	18G 1 18G 1 1/2		Rosa
1,00 x 25 1,00 x 30	19G 1 19G 1 1/4		Amarelo
0,80 x 25 0,80 x 30 0,80 x 40	21G 1 21G 1 1/4 21G 1 1/2		Verde
0,70 x 25 0,70 x 30	22G 1 22G 1 1/4		Preto
0,55 x 20	24G 3/4		Violeta
0,45 x 13	26G 1/2		Castanho
0,38 x 13	27 5G 1/2		Cinza




FONTE: Disponível em: <<http://www.bd.com>>.
Acesso em: 18 fev. 2009.

25.1 ANTICOAGULANTES

Nas coletas de sangue sem vácuo, que exigem a manutenção do sangue na condição líquida, o tubo deve conter previamente o anticoagulante. Assim, após a transferência do sangue para o tubo, este deve ser delicadamente misturado ao anticoagulante por intermédio da inversão do tubo. Nas coletas a vácuo, utilizam-se tubos próprios, que já contém o anticoagulante, devendo-se atentar apenas ao tipo de anticoagulante contido e o destino da amostra. Há diversos anticoagulantes

sanguíneos (Tabela 11), sendo que cada um possui indicações e contraindicações.

TABELA 11 - ANTICOAGULANTES, EXAMES DE SANGUE E PROPORÇÕES

Anticoagulante	Exames	Proporções	Tampa em coleta a vácuo
EDTA	Hemograma Plaquetometria	Utilizado na proporção de duas gotas para 5 ml de sangue.	
Heparina 1%	Hemograma	Utilizado com seringas de 5 ml banhadas pelo anticoagulante.	
Citrato de sódio 3,8%	Testes da coagulação	Utilizado na proporção de 1:9.	

FONTE: Takahira, 2003.

O EDTA, cuja sigla significa ácido etileno diamino tetracético, realiza o sequestro de cálcio impedindo a coagulação sanguínea; este anticoagulante tem a vantagem de não alterar nem o tamanho nem a coloração das células sanguíneas, possibilitando estabilidade aos elementos celulares, conservando as amostras de sangue por até oito dias sem hemólise evidente.

A contagem dos eritrócitos, leucócitos ou reticulócitos, a dosagem de hemoglobina e o hematócrito não mostram variações por até 48 horas em sangues coletados com EDTA mantidos sob refrigeração. A hemossedimentação (praticamente não utilizada em Medicina Veterinária) e os esfregaços podem ser feitos com sangue mantido até três horas à temperatura ambiente (seis horas de acordo com alguns autores) ou 24 horas refrigerado. Mas o ideal é que se faça o esfregaço no máximo uma hora após a coleta.

Portanto, este é o anticoagulante preferido para hemogramas e também é utilizado na classificação e tipagem sanguínea (especialmente em humanos) e determinações bioquímicas onde é empregado plasma (exceto sódio e potássio, que são componentes da fórmula do EDTA, e cálcio, que é sequestrado com a sua utilização).

A heparina impede a conversão da protrombina em trombina e mantém o sangue efetivo por 10 a 12 horas, porém uma de suas desvantagens é o custo, mais



caro que o EDTA. A heparina pode ser usada para as contagens de eritrócitos, mas não é recomendada para leucócitos, pois interfere sobre eles causando sua agregação, alterando sua morfologia e dificultando sua contagem. Este anticoagulante não é recomendado para testes de coagulação devido ao seu mecanismo.

O citrato de sódio 3,8% não é utilizado para hemogramas, pois provoca deformação morfológica das células sanguíneas. Os outros anticoagulantes são utilizados com outros fins, que não a realização de hemogramas, entre eles estão o fluoreto de sódio, oxalato de cálcio, oxalato de potássio, oxalato de amônia, entre outros.

25.2 COLETA NAS DIFERENTES ESPÉCIES

De modo geral, a flebotomia segue as seguintes etapas, idênticas a todas as espécies animais:

- a) Conter o paciente, de modo a não agitá-lo;
- b) Tricotomizar o local escolhido;
- c) Efetuar o garrote;
- d) Passar álcool (70% ou iodado) sobre o local escolhido;
- e) Puncionar a veia (flebotomia propriamente dita);
- f) Soltar o garrote;
- g) Retirar a agulha da veia;
- h) Armazenar o sangue no frasco escolhido e previamente identificado.

A contenção é variável de espécie para espécie e os métodos utilizados para tal também são variáveis, com uso do brete ou cordas no caso de grandes animais; e mordaças ou “botinhas” para cães e gatos, respectivamente. É desejável que a contenção não agite ou excite o animal, e sim que garanta tanto a segurança deste como das pessoas envolvidas na coleta.

A necessidade da tricotomia (corte dos pelos) é considerada questionável. Um dos pontos é a estética, pois os proprietários geralmente não concordam com o



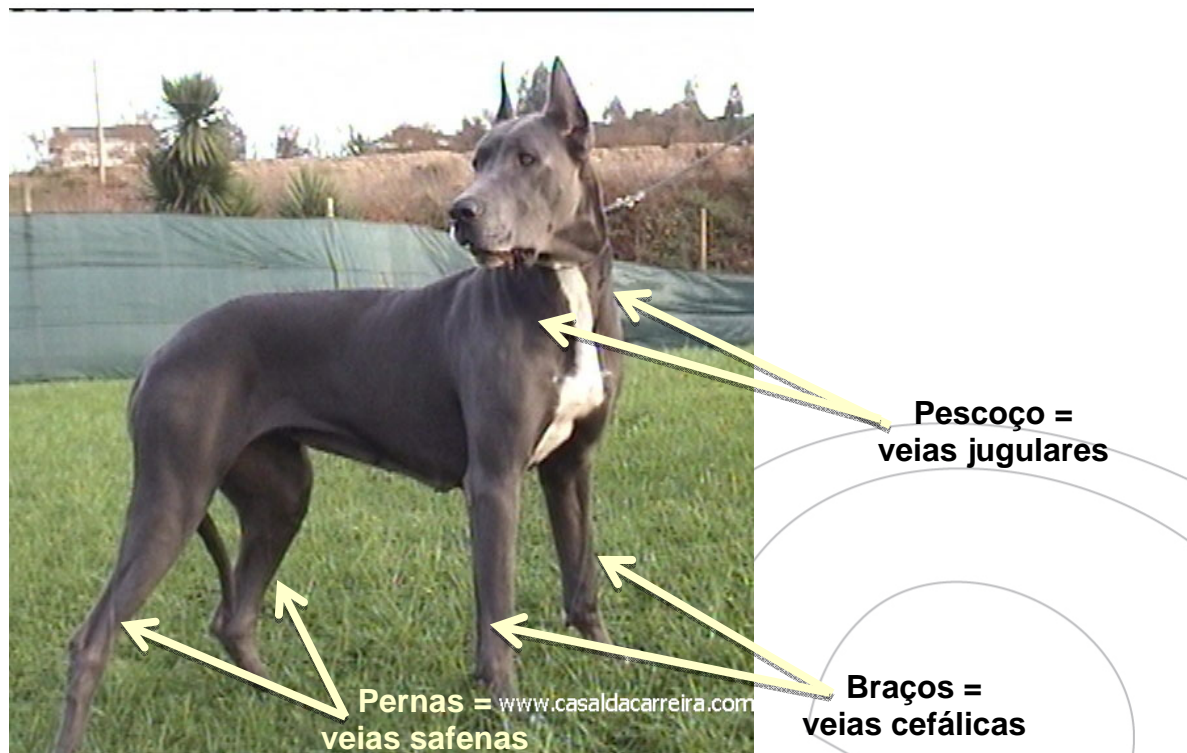
procedimento, pois produz uma falha na pelagem do animal. Outro ponto é a contaminação; alguns autores consideram os pelos bastante contaminados e afirmam que estes poderiam propiciar a entrada de microrganismos durante a introdução da agulha na pele do animal; já outros dizem que a tricotomia elimina a barreira imunológica fisiológica que os pelos representam.

Para a coleta sem vácuo utilizam-se agulhas e seringas convencionais, descartáveis. Após a coleta, retira-se a agulha da seringa e com o tubo inclinado, transfere-se o sangue fazendo com que ele escorra pelas paredes do frasco e não crie bolhas de ar ou provoque hemólise. O frasco deve estar sempre limpo e seco, pois a água provoca hemólise *in vitro* e os resíduos metálicos ou de detergente podem comprometer os resultados. Como dito anteriormente, depois de se colocar o sangue no tubo contendo anticoagulante, a amostra deve ser delicadamente homogeneizada.

Nas coletas realizadas a vácuo, o tubo deve ser preenchido conforme o vácuo que apresenta, pois isto determina uma correta relação entre a quantidade de anticoagulante e sangue. Caso seja preenchido com menos sangue do que o ideal, o excesso de anticoagulante pode diluir a amostra e alterar valores de contagem de células e até mesmo o hematócrito.

Quanto às veias escolhidas para coleta há três consideradas principais (Figura 86). As principais veias utilizadas para coleta de sangue nos animais são a jugular, localizada no pescoço; a cefálica, localizada nos membros anteriores e a safena, localizada nos membros posteriores. Contudo, esta preferência varia com a espécie e o porte do animal em questão.

FIGURA 86 - PRINCIPAIS VEIAS PARA COLETA DE SANGUE NOS ANIMAIS



FONTE: Disponível em: <<http://www.casaldacarreira.com.br>>. Acesso em: 18 fev. 2009.

25.2.1 Caninos

Difícilmente a coleta de sangue é problemática em cães, a não ser em filhotes muito pequenos ou animais muito agressivos ou agitados. A principal veia de escolha é a cefálica, porém também se utiliza a jugular (mais calibrosa, porém exigem certa experiência) e as veias dos membros pélvicos, as safenas e as femurais (contraindicadas por alguns autores devido à proximidade das artérias femurais). Alguns clínicos preferem que o dono esteja presente durante a coleta, pois transmitiriam confiança ao animal; outros, no entanto, preferem que este não esteja presente, devido ao excesso de zelo ou à necessidade de contenção.

25.2.2 Felinos

Felinos são mais estressáveis do que cães, pois estes são muito sensíveis a mudanças de ambiente ou alterações emocionais, o que pode desencadear alterações hematológicas decorrentes do medo. Além disso, a contenção é geralmente mais difícil nestes animais e as veias dos membros frequentemente não possibilitam a coleta de volume suficiente. Assim, a principal veia a ser considerada e utilizada é a jugular. No entanto, como o sangue geralmente vem vagarosamente, o uso de anticoagulantes na seringa e até na agulha podem ser necessários para evitar a formação de coágulos na amostra.

25.2.3 Equinos

Os equinos são considerados sanguíneos ou linfáticos, sendo que os primeiros possuem parâmetros hematológicos mais elevados e são mais sensíveis ao manejo ou à manipulação. Assim, em equinos sanguíneos devem-se preferir coletas feitas por pessoas íntimas a estes animais, até a presença do médico veterinário pode ser indesejável. Nesses animais, a excitação, como uma simples saída da cocheira, pode representar um aumento de 10 a 15% no hematócrito ou determinar a hemólise da amostra.

Além disso, cuidados com a evitação da contenção, evitação do garroteamento e a manutenção do animal em pleno repouso são necessárias. A principal veia utilizada para coleta de sangue nos equinos é a jugular, preferindo utilizar somente a agulha, sem a seringa acoplada, ou equipamento de coleta a vácuo (sistema vacuotainer) devido à pressão sanguínea nesses animais (Figuras 87 e 88). Outro cuidado é tomado após a coleta, quando o tubo deve ser delicadamente invertido várias vezes, cerca de 20, já que equinos apresentam rouleaux eritrocitário normalmente.

FIGURA 87 - COLETA DE SANGUE A VÁCUO EM EQUINO



FONTE: Disponível em: <http://www.dnaanimal.com.br/imagens/Coleta_Sangue_1.jpg>. Acesso em: 3 fev. 2009.

FIGURA 88 - COLETA DE SANGUE A VÁCUO EM EQUINO, OBSERVAR O GARROTEAMENTO E A POSIÇÃO DE INTRODUÇÃO DA AGULHA



FONTE: Disponível em: <http://www.dnaanimal.com.br/imagens/Coleta_Sangue_2.jpg>. Acesso em: 3 fev. 2009.

25.2.4 Bovinos, ovinos e caprinos

Os ruminantes são geralmente linfáticos, mas isso não quer dizer que não sejam excitados durante as coletas de sangue, por isso as alterações hematológicas decorrentes de coletas estressantes são menos comuns. A prática de puncionar a veia jugular, com uso apenas da agulha, e de depois colocar o frasco sob o jato de sangue, tem sido abandonada e substituída pelo uso de agulhas e seringas menores na punção de outras veias, facilmente perceptíveis, como as mamárias e a veia

caudal.

26 PROCESSAMENTO DA AMOSTRA

O processamento da amostra depende primeiramente de se saber o destino dela, geralmente explicitado pelas requisições enviadas conjuntamente à amostra para o laboratório. E então se deve proceder ao que foi pedido, no caso, o hemograma.

26.1 HEMOGRAMA

O hemograma ou exame de sangue é um dos exames mais utilizados em toda Medicina Veterinária, e provavelmente o mais utilizado quando se refere apenas a pequenos animais. Sua importância se deve à facilidade de obtenção da amostra e à amplitude da avaliação de seus resultados, verificando as células sanguíneas em termos quantitativos e qualitativos, possuindo grande valor tanto para o diagnóstico como o prognóstico do animal.

O hemograma é dividido em: eritrograma, isto é, avaliação dos eritrócitos; leucograma, avaliação dos leucócitos; e plaquetograma, avaliação das plaquetas. Como a coagulação não se baseia apenas nas plaquetas, avaliações mais detalhadas destes mecanismos são exploradas pelos exames que compõem o coagulograma.

Por esses motivos, muitos autores, clínicos e patologistas, tanto da medicina humana como veterinária, consideram o termo “hemograma completo” redundante, pois a palavra hemograma já trás em seu significado a ideia de um exame completo do sangue da pessoa ou animal. Um diferencial dos hemogramas em Medicina Veterinária é que estes geralmente incluem os valores das proteínas plasmáticas e do fibrinogênio, o que não ocorre na Medicina Humana.

O eritrograma é dividido em:



- Hematimetria (Hm) ou contagem de eritrócitos;
- Hemoglobinemias (Hb) ou dosagem da hemoglobina no sangue;
- Hematócrito (Ht) ou volume globular (VG);
- Índices hematimétricos também chamados de índices eritrocitários (VGM, CHGM, HGM, RDW);
- Contagem de reticulócitos;
- Proteínas plasmáticas totais (PPT);
- Fibrinogênio plasmático (F); e,
- Índice icterico (II).

Apesar de estes três últimos itens avaliarem quesitos plasmáticos e não eritrocitários, eles podem ser incluídos no eritrograma devido ao seu modo de execução, a partir de um capilar sanguíneo utilizado para o volume globular, conforme será explicado a seguir. O leucograma é composto apenas pela contagem total de leucócitos, chamada de leucometria global, e pela contagem diferencial dos glóbulos brancos, chamada de leucometria diferencial ou específica. E o plaquetograma é composto pela contagem de plaquetas, chamada plaquetometria. Em todos os casos, de eritrócitos, leucócitos ou plaquetas, as células sanguíneas são avaliadas morfolologicamente.

26.1.1 Hematimetria (Hm)

A hematimetria é a contagem do número de eritrócitos por milímetro cúbico (mm^3) de sangue e seus valores de normalidade variam de espécie para espécie (Tabela 12).

TABELA 12 - VALORES NORMAIS DE HEMATIMETRIA NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

Animal	Hematimetria (Eritrócitos $\times 10^3/\text{mm}^3$)
Bovino	5 a 10
Canino	5,5, a 8,5
Caprino	12 a 20
Equino tipo linfático	5,5 a 9,5
Equino tipo sanguíneo	6 a 12
Felino	5,5 a 10
Ovino	8 a 16
Suíno	5 a 8

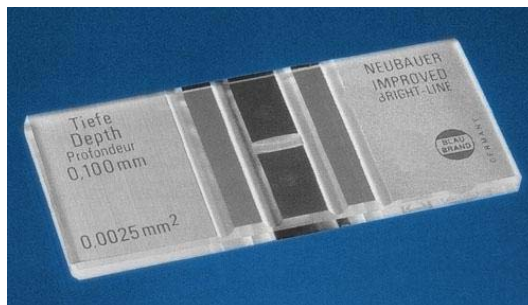
FONTE: Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2008.

Quando a hematimetria está normal ou alterada utilizam-se termos técnicos, particulares a cada caso (causas de anemia e policitemia foram abordadas no módulo I).

- Normocitose: quando o número de eritrócitos encontra-se dentro dos valores de normalidade para a espécie em questão;
- Anemia: quando está abaixo dos valores normais diz-se que o animal está anêmico;
- Policitemia: termo utilizado quando a hematimetria está elevada; também se usa o termo poliglobulia.

A contagem de eritrócitos pode ser feita manualmente, em câmaras de Neubauer (Figura 89), ou automaticamente em contadores (Figura 90). Para a contagem manual utilizam-se como diluidores do sangue o líquido de Gowers (preferido para bovinos), Marcano (preferido em equinos e carnívoros), o líquido de Hayen e o próprio soro fisiológico (utilizados em qualquer espécie animal). Todos podem ser adquiridos prontos, comercialmente preparados, ou feitos no laboratório a partir de suas fórmulas.

FIGURA 89 - CÂMARA DE NEUBAUER



FONTE: Disponível em: <<http://www.digilablaboratorio.com.br/acessorios/neubauer2.jpg>>. Acesso em: 14 fev. 2009.

FIGURA 90 - CONTADOR AUTOMÁTICO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS



FONTE: Disponível em: <<http://www.biociclo.com.br/celm/imagens/cc-550.jpg>>. Acesso em: 14 fev. 2009.

Os procedimentos manuais para realização da hematimetria podem ser feitos em microdiluição (utilizando a pipeta de Thomas – Figura 91) ou macrodiluição (utilizando tubos de ensaio). O procedimento para microdiluição é:

- Homogeneizar o sangue;
- Aspirar sangue até a marca de 0,5 da pipeta de Thomas (com a bolinha vermelha no interior), utilizando uma borracha de garrote entre a pipeta e a boca;
- Limpar a pipeta com papel ou gaze;

- Aspirar líquido diluidor até a marca de 101 (diluição de 1:200), sem paradas que podem causar a entrada de ar;
- Agitar a pipeta por cerca de cinco minutos manualmente;
- Desprezar as primeiras gotas e preencher um lado da câmara de Neubauer;
- Aguardar três minutos para que os eritrócitos se sedimentem e possam ser contados;
- Com a objetiva de 40x, focalizar o retículo da câmara de Neubauer e proceder à contagem dos eritrócitos.

FIGURA 91 - PIPETA DE THOMAS PARA HEMATIMETRIA
(BOLINHA VERMELHA NO INTERIOR)



FONTE: Garcia-Navarro, 2005.

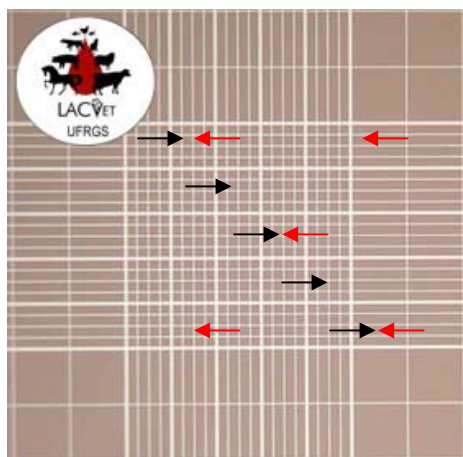
A macrodiluição, realizada em tubo de ensaio, é feita da seguinte forma:

- Colocar 4 ml do líquido diluente no tubo de ensaio;
- Acrescentar 20 μ l do sangue homogeneizado e rinsar a pipeta;
- Homogeneizar a solução final com o auxílio da pipeta;
- Preencher um lado da câmara de Neubauer, aguardar a sedimentação e realizar a contagem.

A contagem dos eritrócitos é feita nos quadrados menores, localizados no centro do retículo da câmara de Neubauer (Figura 92). São contados ao todo cinco destes quadrados menores, que podem ser computados em diagonal (setas pretas da figura) ou os quatro dos cantos mais o quadrado central (setas vermelhas da

figura).

FIGURA 12 - RETÍCULO DA CÂMARA DE NEUBAUER, FOCALIZANDO A ÁREA CENTRAL, ONDE SÃO CONTADOS OS ERITRÓCITOS (E)

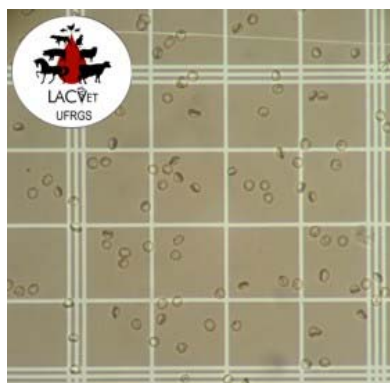


FONTE: Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/eritrocitos_files/neubauer_eritro.jpg>.

Acesso em: 14 fev. 2009.

No interior dos quadrados (Figura 93), contam-se os eritrócitos localizados até a segunda linha superior e a segunda linha da esquerda de cada um deles; estes são somados e por fim, multiplicados por 10.000. A multiplicação é realizada por dez mil devido à diluição 1:200 (multiplica-se por 200), devido à profundidade da câmara (1mm, multiplica-se por 10), e devido ao fato de que apenas um quinto dos eritrócitos são contados nos quadrados com 1mm^3 de área (multiplica-se por 5). Alguns autores indicam a multiplicação por 10.050 nos casos em que se utiliza a macrodiluição.

FIGURA 93 - UM DOS QUADRADOS CENTRAIS DA CÂMARA DE NEUBAUER COM ERITRÓCITOS A SEREM CONTADOS (MARCANO, 40X)



FONTE: Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/eritrocitos_files/eritro1.jpg>.

Acesso em: 14 fev. 2009.

As principais causas de erro da contagem manual de eritrócitos devem-se ao material mal lavado ou molhado; diluição mal feita do sangue; não observação exata da linha nos casos de microdiluição; agitação da pipeta de Thomas insuficiente ou mal feita; demora na realização da contagem, provocando o ressecamento de certas áreas da câmara; colocação incorreta da lamínula, provocando alterações da profundidade da câmara de Neubauer; utilização de lamínulas não adequadas, pois se recomenda utilizar as lamínulas originais da câmara, feitas de cristal; e, não filtração do diluente do sangue, determinando o aparecimento de sujeiras.

Nos sistemas automáticos a contagem é realizada por impedância elétrica; aqui, o sangue é diluído em soluções eletrolíticas. A solução resultante é colocada entre dois eletrodos por meio de abertura denominada diafragma. O volume colocado deve ser preciso e então o líquido é movimentado; essa movimentação inibe a transmissão da corrente elétrica e essas interferências são percebidas e “traduzidas” para o número de eritrócitos.

26.1.2 Hemoglobinemia (Hb)

A hemoglobinemia se refere à determinação da quantidade de hemoglobina presente em 100 ml de sangue, o que é expresso em g% (gramas por cento) ou g/dL (gramas por decilitro). Assim como a hematimetria, a hemoglobinemia é avaliada a partir de seus valores e utilizam-se os mesmos termos técnicos para avaliação: normocitose, dentro do intervalo de referência para a espécie (Tabela 13); anemia quando está abaixo e policitemia ou poliglobulia quando está mais alto do que o esperado.

TABELA 13 - VALORES NORMAIS DE HEMOGLOBINEMIA NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

Animal	Hemoglobinemia (g%)
Bovino	8 a 14
Canino	12 a 18
Caprino	8 a 14
Equino tipo linfático	8 a 14
Equino tipo sanguíneo	11 a 19
Felino	8 a 14
Ovino	8 a 16
Suíno	10 a 16

FONTE: Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2008.

A dosagem da hemoglobina circulante é feita utilizando-se kits especiais para tal, disponíveis comercialmente. Para realizar a quantificação desta substância é preciso seguir as orientações do fabricante e os reagentes adequados, de modo a se obter resultados confiáveis.

26.1.3 Hematócrito (Ht) ou Volume Globular (VG)

O hematócrito ou volume globular é o terceiro parâmetro utilizado para avaliar as hemácias presentes no sangue, pois ele se refere tanto ao número de glóbulos vermelhos quanto ao tamanho destes, sendo correspondente à relação entre o volume de eritrócitos e o volume total de sangue, por isso é expresso em porcentagem (%) (Tabela 14). Suas variações quantitativas são igualmente denominadas por normocitose, anemia ou policitemia.

TABELA 14 - VALORES NORMAIS DO HEMATÓCRITO NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

Animal	Hematócrito (%)
Bovino	24 a 48
Canino	37 a 55
Caprino	24 a 48
Equino tipo linfático	22 a 44
Equino tipo sanguíneo	32 a 55
Felino	24 a 45
Ovino	24 a 50
Suíno	32 a 50

FONTE: Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2008.

Dos três exames que analisam os eritrócitos, hematimetria, hemoglobinemias e hematócrito, este último é o mais exato, tanto que a partir dele é possível estimar os dois primeiros quando o animal não está anêmico. Isto é, pode-se afirmar que a hemoglobinemias em um animal saudável de qualquer espécie representa cerca de um terço do volume globular ($Hb = Ht / 3$); enquanto a hematimetria é estimada em um sexto do hematócrito no caso de cães ($Hm \text{ cães} = Ht / 6$) e um nono no caso do ser humano ($Hm \text{ humanos} = Ht / 9$).

Além disso, o volume globular, isoladamente, também serve como critério



para determinar a necessidade ou não de um animal receber uma transfusão sanguínea. Para isso são tomados valores como indicadores da necessidade de transfusão, os quais variam entre as espécies:

- Gatos: $Ht \leq 10\%$;
- Cães: $Ht \leq 12\%$;
- Bovinos: $Ht \leq 14\%$;
- Equinos: $Ht \leq 15\%$.

De qualquer modo, estes valores não devem ser tomados como absolutos, sendo necessário também avaliar outros parâmetros para se decidir pela realização de uma transfusão sanguínea, tais como a cronicidade da anemia, a idade do animal, o estado clínico e a regeneratividade da medula óssea (aspectos mais detalhados sobre transfusões sanguíneas não serão abordados neste curso).

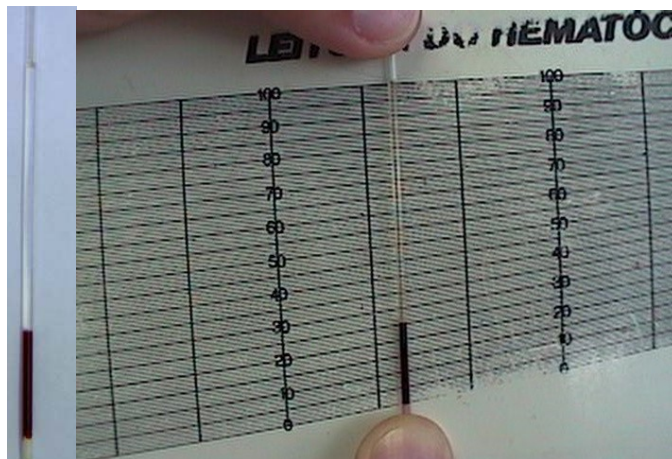
Existem dois tipos de técnicas para o hematócrito, o macro, também chamado de hematócrito de Wintrobe, e o micro. Para realizar o macro-hematócrito deve-se:

- a) Agitar o sangue delicadamente, permitindo uma homogeneização da amostra.
- b) Utilizando uma seringa acoplada à agulha comprida ou uma pipeta de *Pasteur*, preencher o tubo de Wintrobe até a marca de 100, evitando que se formem bolhas de ar;
- c) Centrifugar o tubo a 5000 rpm por 30 minutos para a maioria das espécies, com exceção dos bovinos, que devem ter suas amostras de sangue centrifugadas por 45 minutos devido à difícil compactação das hemácias destes;
- d) Realizar a leitura exatamente no local onde terminam os eritrócitos e determinar o volume globular.

Os procedimentos para realização do micro-hematócrito são:

- a) Homogeneizar o sangue delicadamente;
- b) Pegar um tubo capilar deixando o sangue preenchê-lo por capilaridade até cerca de dois terços de sua capacidade;
- c) Limpar o exterior do tubo, com papel;
- d) Fechar a extremidade sem sangue com cera ou fogo (isqueiro, bico de *Bunsen*);
- e) Utilizar a microcentrífuga a uma velocidade de 16000 rpm por cinco minutos;
- f) Efetuar a leitura do capilar na escala da microcentrífuga (Figura 94).

FIGURA 94 - CAPILAR SANGUÍNEO APÓS CENTRIFUGAÇÃO EVIDENCIANDO O PLASMA E LEITURA NO CARTÃO DE MICRO-HEMATÓCRITO



FONTE: Disponível em: <<http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/atuacao.php>>. Acesso em: 26 jan. 2009.

Comercialmente estão disponíveis dois tipos de capilares sanguíneos, os heparinizados e os não heparinizados. Quando a amostra é acondicionada em um tubo contendo EDTA ou outro anticoagulante e depois é transferida para o capilar, usam-se os não heparinizados ou comuns (delineados em azul). Quando se obtém a amostra para o hematócrito diretamente a partir da venipunção, utilizam-se os capilares heparinizados, delineados em vermelho. O procedimento para obtenção do volume globular é exatamente igual, não importando o tipo de capilar utilizado.

Apesar do valor clínico do hematócrito, infelizmente ele também é um exame sujeito a erros. As possíveis fontes de falha para este parâmetro são:

- Excesso de anticoagulante na amostra;
- Falha na obtenção do sangue, com obtenção de líquido tecidual;
- Centrifugação a uma velocidade ou tempo inadequado ou insuficiente;
- Homogeneização inadequada da amostra;
- Falha na leitura, incluindo a camada de leucócitos;
- Irregularidade no diâmetro do capilar, que deve ter um orifício uniforme de 1 mm.

26.1.4 Índices Hematimétricos (VGM e CHGM)

Os índices hematimétricos são parâmetros de avaliação das hemácias no que diz respeito ao tamanho destas células e à distribuição da hemoglobina nestas, por isso são importantes e servem especialmente para a classificação das anemias. Na literatura, encontram-se referências a quatro parâmetros hematimétricos: o VGM (volume globular médio), o CHGM (concentração de hemoglobina globular média), o HGM (hemoglobina globular média), o qual vem sendo desconsiderado por muitos autores e laboratórios, por não servir para a classificação das anemias; e o RDW (*red blood cell distribution width*), muito utilizado na medicina humana, e ultimamente sendo utilizado na veterinária.

Volume Globular Médio (VGM)

O VGM ou volume globular médio representa a determinação média do volume dos eritrócitos, pois em uma mesma amostra de sangue podem ocorrer hemácias de tamanhos ligeiramente diferentes. Assim, o VGM é o índice de tamanho e é referido em fentolitros (fLs). Ele é calculado pelo hematócrito multiplicado por 10 dividido pela hematimetria, o que em fórmula fica da seguinte forma:

$$\text{VGM} = \frac{\text{Ht} \times 10}{\text{Hm}}$$

Visto que o hematócrito e a hemoglobinemias são variáveis entre as espécies é esperado que ocorra o mesmo com o VGM (Tabela 15), sendo necessário utilizar os valores de referência para avaliá-lo. Como se refere a tamanho, o VGM serve para classificar as anemias em:

- Macrofítica: VGM acima do valor máximo esperado para a espécie em questão;
- Normofítica: VGM dentro dos intervalos de referência para a espécie avaliada;

- Microcítica: VGM abaixo do valor mínimo esperado para a espécie.

TABELA 15 - VALORES NORMAIS DE VGM NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

Animal	VGM (fl.)
Bovino	40 a 60
Canino	60 a 77
Caprino	19 a 37
Equino	37 a 50
Felino	39 a 55
Ovino	23 a 48
Suíno	50 a 68

FONTE: Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2008.

Concentração de Hemoglobina Globular Média (CHGM)

Outro índice hematológico de importância, o CHGM ou a concentração de hemoglobina globular média estima a média, em porcentagem, de quanto o eritrócito está preenchido pela hemoglobina. Assim, considera-se que o eritrócito tenha um espaço de 100% e o CHGM representa o quanto destes 100% está ocupado por hemoglobina. O cálculo do CHGM é baseado na hemoglobinemia multiplicada por 100 dividida pela hematócrito, cuja fórmula é:

$$\text{CHGM} = \frac{\text{Hb} \times 100}{\text{Ht}}$$

Este parâmetro serve para classificar morfologicamente as anemias em dois tipos: normocrômica e hipocrômica, a partir dos valores de referência tomados para cada espécie (Tabela 16). A anemia é dita normocrômica quando o CHGM encontra-se dentro de seus intervalos de referência; e hipocrômica, quando o CHGM está abaixo do limite inferior. Não há hipercromia, pois o eritrócito jamais terá mais do que 36% de seu interior ocupado por hemoglobina; porém, o CHGM pode se apresentar acima de 36%, o que significa que houve hemólise intravascular (*in vivo*) ou extravascular (*in vitro*), cuja causa deverá ser investigada.

TABELA 16 - VALORES NORMAIS DE CHGM NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

Animal	CHGM (%)
Bovino	26 a 34
Canino	31 a 36
Caprino	30 a 35
Equino	31 a 35
Felino	31 a 35
Ovino	29 a 35
Suíno	30 a 34

FONTE: Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2008.

Hemoglobina Globular Média (HGM)

O HGM ou hemoglobina globular média refere-se à quantidade de hemoglobina em termos de peso que cada um dos eritrócitos carrega. Sua unidade de medida é o picograma (pg) e seu cálculo é realizado pela multiplicação do hematócrito por 10 dividido pela hematimetria; fórmula:

$$\text{HGM} = \frac{\text{Hb} \times 10}{\text{Hm}}$$

Contudo, o HGM não serve para classificar morfologicamente as anemias, por isso vem sendo abandonado por muitos autores e na prática dos laboratórios.

Red Blood Cell Distribution Width (RDW)

O RDW ou *red blood cell distribution width*, referido em português como grau de anisocitose, mas cuja sigla é mantida, avalia a distribuição dos eritrócitos em relação à sua largura, funcionando como marcador da existência ou não da anisocitose, pois reflete o grau de heterogeneidade entre as hemácias, considerado equivalente à anisocitose observada na extensão sanguínea. Este índice hematimétrico somente é calculado pelos contadores hematológicos.

Para estipular o valor do RDW, o contador hematológico verifica o total de eritrócitos contados e os classifica pelo tamanho, por meio de um circuito de derivação variável e automático. Essa derivação começa no nível equivalente a 360 fentolitros e move-se progressivamente para baixo até que 20% dos eritrócitos presentes tenham um tamanho maior que a derivação. O tamanho celular em que isso ocorre é gravado como o 20º valor percentual (identificado pela letra A). A derivação continua diminuindo até que 80% de todos os eritrócitos tenham tamanho maior que a derivação. O tamanho celular em que isso ocorre é gravado como o 80º valor percentual (identificado com a letra B). Os valores são colocados na seguinte equação: $RDW = \frac{A - B \times \text{constante}}{A + B}$.

Com o estabelecimento do RDW foi proposta uma nova classificação para as anemias humanas baseadas no VGM e no RDW. Viu-se que o RDW complementa o VGM para melhorar a classificação das anemias e foi sugerida uma classificação baseada no tamanho médio e na heterogeneidade das hemácias. Desta forma, as anemias humanas são, atualmente, classificadas de acordo com o VGM (baixo, normal e alto); e o RDW, em normal (homogênea) e alto (heterogênea), o que possibilita ao clínico um diagnóstico diferencial mais acurado.

Na medicina humana, a utilização do RDW está bem definida e sua correlação com a anisocitose em esfregaços sanguíneos e a contagem de reticulócitos já foram largamente verificadas, contudo na medicina veterinária encontram-se poucas referências e ainda há discordância entre os autores quanto à presença destas correlações, à utilização prática do RDW para os animais, e tampouco sobre seus valores de referência (Tabela 17).

TABELA 17 - VALORES NORMAIS DE RDW NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

Animal	RDW (%)
Bovino	10 a 15
Canino (qualquer idade)	10 a 15
Equino	24 a 27
Felino < 6 meses	4,5 a 7,8
Felino > 6 meses	6 a 8

FONTE: Feldman et al., 2000.

26.1.5 Contagem de Reticulócitos

A contagem de reticulócitos, também chamada de taxa de reticulócitos ou contagem reticulocitária, serve para avaliar a resposta da medula óssea nos casos de anemia. Quando o número de reticulócitos aumenta, indica atividade eritropoética e a anemia é classificada em regenerativa; quando não há aumento no número de eritrócitos, a anemia é considerada arregenerativa e a medula pouco ativa. Para esta classificação são utilizados os valores de referência de cada espécie, sendo que algumas podem apresentar pequeno número de reticulócitos circulantes fisiologicamente (Tabela 18).

TABELA 18 - VALORES NORMAIS DE RETICULÓCITOS NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

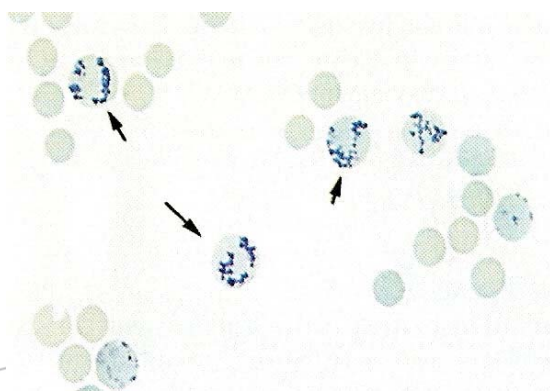
Animal	Reticulócitos (%)
Canino	0 a 1,5
Equino	0
Felino	0 a 1,0
Suíno	0 a 2,0

FONTE: Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2008.

Cães, gatos e suínos apresentam reticulócitos circulantes, independente de estarem anêmicos ou não; enquanto ruminantes só os liberam após hemólise ou hemorragia severas, e equinos nunca liberam reticulócitos circulantes. A contagem de reticulócitos pode ser estimada no esfregaço sanguíneo a partir da frequência com que a policromatofilia aparece (como será abordado adiante, sobre a avaliação do esfregaço). Já a técnica em si, para contagem de reticulócitos, baseia-se no fato de que estes são células jovens, sem núcleo, não totalmente hemoglobinizadas, e que apresentam mitocôndrias e ribossomos.

Estas características fazem com que os reticulócitos sejam diferenciados dos eritrócitos maduros quando se utiliza corantes supravital, como o novo de azul de metileno ou azul de cresil brilhante. Com estes corantes, os reticulócitos aparecem com pontos ou traços azuis facilitando diferenciá-los dos eritrócitos maduros e contá-los (Figura 95).

FIGURA 95 - RETICULÓCITOS EM ESFREGAÇO SANGUÍNEO PERIFÉRICO DE CÃO (NOVO AZUL DE METILENO, 100X)



FONTE: Sink e Feldman, 2006.

A técnica para contagem de reticulócitos segue as seguintes etapas:

- Homogeneizar o sangue, coletado com anticoagulante;
- Pingar uma gota de sangue e uma gota de novo azul de metileno (ou azul de cresil brilhante) em um tubo de ensaio;
- Homogeneizar as gotas de sangue e corante supravital;
- Aguardar 15 minutos e então confeccionar um esfregaço com esta mistura;
- Deixar o esfregaço secar ao ar;
- Focalizar o esfregaço em aumento de 100x no microscópio óptico;
- Contar mil células vermelhas (hemácias + reticulócitos) e destas, qual o número de reticulócitos;
- Calcular a porcentagem de reticulócitos.

A mistura de sangue e corante supravital também pode ser feita na pipeta de

contagem de leucócitos, preenchendo com sangue até a marca de 0,5 e novo azul de metileno até a marca de 1,0. Os líquidos são misturados por agitação, aguardam-se igualmente os 15 minutos e então se confecciona o esfregaço. Portanto, ao todo são contadas mil células, entre eritrócitos maduros e reticulócitos, e com o resultado da contagem é feita uma regra de 3, obtendo-se a porcentagem ou valor relativo de reticulócitos (x):

$$\frac{1000 \text{ células vermelhas} - \text{número de reticulócitos contados}}{100 \% - x \%}$$

A partir do valor relativo de reticulócitos e da hematimetria é possível calcular o valor absoluto destas células (x):

$$\frac{100 \% - \% \text{ de reticulócitos}}{\text{Hm} - x / \text{mm}^3}$$

26.1.6 Proteínas Plasmáticas Totais (PPT)

As proteínas plasmáticas totais são avaliadas no tubo capilar centrifugado para o hematócrito. Em um laboratório, para facilitar a prática, o patologista utiliza o tubo na seguinte ordem: hematócrito – índice ictérico – proteínas plasmáticas totais. O procedimento para avaliar a PPT é o seguinte:

- Após centrifugar o capilar, quebrá-lo acima da porção de leucócitos e plaquetas;
- Utilizar a parte do capilar com plasma e pingar as gotas deste no refratômetro;
- Pressionar a cobertura do refratômetro distribuindo o plasma sobre o prisma;
- Realizar a leitura da PPT;
- Limpar o prisma com água destilada e secar com papel.

O refratômetro (Figura 96) é o aparelho que utiliza a refração da luz passando através do líquido colocado em seu interior para avaliar sua concentração. Isso ocorre com a PPT pelo fato de que as proteínas em solução no plasma alteram o índice de refração da luz proporcionalmente à sua concentração. O refratômetro

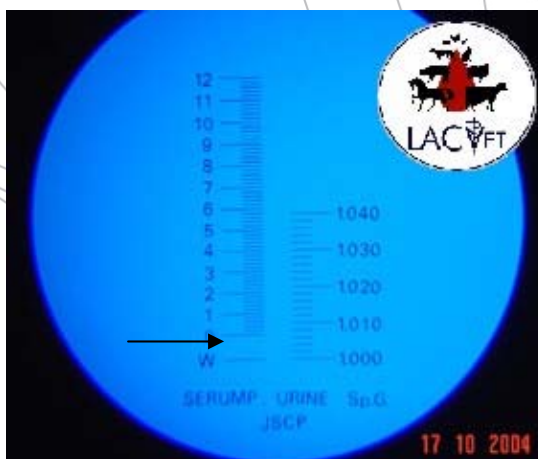
possui duas escalas (Figura 97), sendo a da esquerda utilizada para avaliação de soro ou plasma e a da direita para densidade urinária (além da hematologia, o refratômetro tem inúmeras utilidades).

FIGURA 96 - REFRAATÔMETRO DE MÃO



FONTE: Disponível em: <<http://www.mardosul.com.br/images/refractometro3.jpg>>.
Acesso em: 4 fev. 2009.

FIGURA 97 - ESCALAS DO REFRAATÔMETRO, DE SORO E PLASMA À ESQUERDA (SETA) E DE URINA À DIREITA



FONTE: Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/urina_fisico_files/escala.jpg>.
Acesso em: 4 fev. 2009.

Antes de utilizar o refratômetro é necessário calibrá-lo utilizando água destilada e colocando a linha que se forma sobre o nível 0. Após a calibração, deve-se secar as duas porções que comprimem o líquido utilizando lenços de papel, e

então colocar as gotas de plasma. É indicado calibrar o refratômetro diariamente, visto que a concentração das proteínas plasmáticas é determinada pela transmissão de luz, fatores como hemólise, lipemia e icterícia podem alterar o resultado, assim como concentrações anormais de glicose, ureia, sódio ou cloretos.

26.1.7 Fibrinogênio Plasmático (F)

O fibrinogênio plasmático é realizado em um tubo capilar também centrifugado, porém diferente daquele usado para a avaliação da PPT, pois o tubo encaminhado para avaliação deste deve ser mantido íntegro. Os procedimentos para mensuração do fibrinogênio são:

- Colocar o tubo íntegro após a centrifugação, em um banho-maria entre 56 e 58° C durante três minutos, o que precipita o fibrinogênio;
- Retirar o tubo do banho-maria e centrifugar novamente, nas mesmas condições de velocidade e tempo do hematócrito (16000 RPM por cinco minutos);
- Após a segunda centrifugação, o fibrinogênio se acumula acima dos leucócitos e plaquetas, formando uma nova camada de coloração branca, e o tubo deve ser quebrado acima desta nova linha;
- Pingar gotas do líquido no refratômetro e realizar a leitura das proteínas plasmáticas (PP), já sem o fibrinogênio que se precipitou;
- Depois da leitura, realizar o cálculo do fibrinogênio:

$$F \text{ (mg \%)} = PPT \text{ (g \%)} - PP \text{ (g \%)}$$

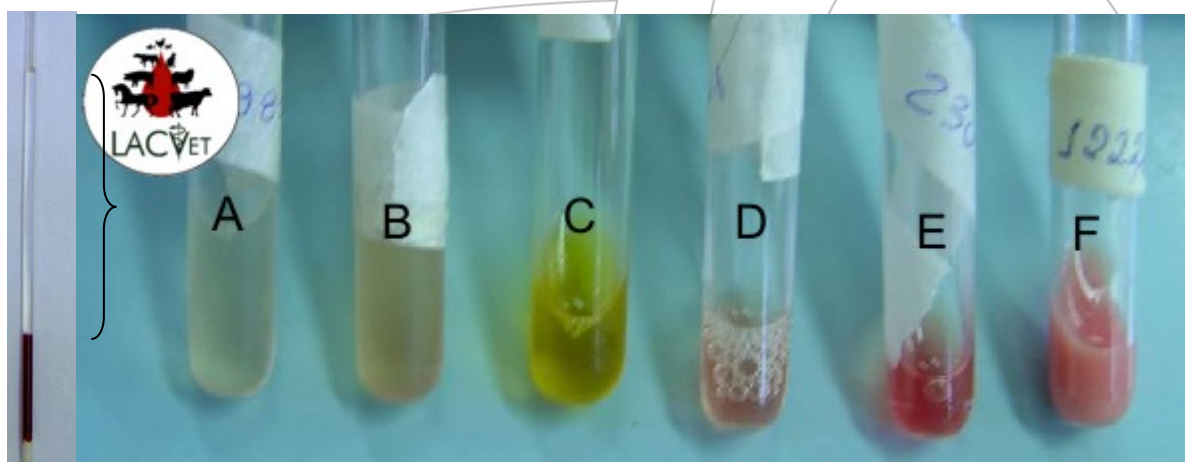
26.1.8 Índice Ictérico (II)

O índice ictérico é um parâmetro avaliado no mesmo tubo capilar utilizado para a realização do hematócrito, na fase plasmática presente no tubo. Na fase

plasmática verifica-se a coloração do plasma (Figura 98):

- Coloração palha ou pálida: normal, considerada em número de dois a cinco por alguns laboratórios;
- Tons amarelados: classificados em levemente, moderada a intensamente ictericos, consideradas em números de 10 a 100 por alguns laboratórios;
- Tons avermelhados: classificados em levemente, moderadamente a intensamente hemolisados (a causa mais comum de hemólise é falha da coleta);
- Tons esbranquiçados ou turvos: classificados em leve, moderado a intensamente lipêmicos;
- Tons alaranjados ou esverdeados: indicam elevada concentração de bilirrubina.

FIGURA 98 - CAPILAR APÓS CENTRIFUGAÇÃO E SOROS CANINOS: A E B – DE COLORAÇÃO PÁLIDA, NORMAL; C – ICTÉRICO; D – LEVEMENTE HEMOLISADO; E – FORTEMENTE HEMOLISADO; F – LIPÊMICO



FONTE: Disponível em: <<http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/bioquimica.php>>. Acesso em: 26 jan. 2009.

Como a avaliação do índice icterico pode ser subjetiva, sofrendo a interferência de seu avaliador, alguns laboratórios o desconsideram, ou padronizam a avaliação utilizando tabelas de cores, como a figura acima. A porção plasmática observada no capilar também pode ser útil para visualização de microfilárias (*Dirofilaria* ou *Dipetalonema*) e mais raramente até para tripanossomos. Nesses casos, o microtubo deve ser observado sob leve iluminação do microscópio.

26.1.9 Leucometria Global (LG)

A leucometria global é a determinação do número total de leucócitos por milímetro cúbico (mm^3) de sangue (Tabela 19). Ela permite a verificação das condições de leucopenia, diminuição do número de leucócitos, ou leucocitose, aumento do número de leucócitos nos animais, indicadores da capacidade de defesa do organismo.

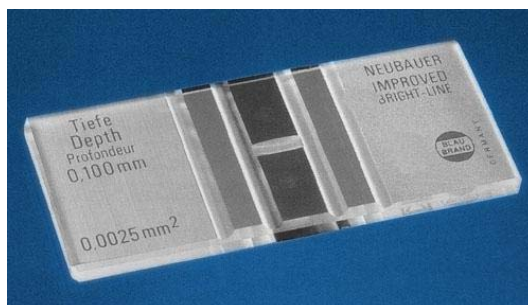
TABELA 19 - VALORES NORMAIS DE LEUCOMETRIA GLOBAL NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

Animal	Leucócitos ($\times 10^3 / \text{mm}^3$)
Bovino	4 a 12
Canino, menos de 3 meses	8,5 a 17,3
Canino, 3 a 6 meses	8 a 16
Canino, 6 a 12 meses	8 a 16
Canino, 1 a 8 anos	6 a 17
Canino, mais de 8 anos	6 a 16
Caprino	8 a 16
Equino	7 a 14
Felino, menos de 6 meses	6 a 17
Felino, mais de 6 meses	5,5 a 19,5
Ovino	4 a 12
Suíno	11 a 22

FONTE: Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2008.

A leucometria global, assim como a hematimetria, pode ser feita manualmente, utilizando-se a câmara de Neubauer (Figura 99) ou em contadores automáticos (Figura 100).

FIGURA 99 - CÂMARA DE NEUBAUER



FONTE: Disponível em: <<http://www.digilablaboratorio.com.br/acessorios/neubauer2.jpg>>.

Acesso em: 14 fev. 2009.

FIGURA 100 - CONTADOR AUTOMÁTICO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS



FONTE: Disponível em: <<http://www.biociclo.com.br/celm/imagens/cc-550.jpg>>.

Acesso em: 14 fev. 2009.

Antes da contagem na câmara de Neubauer em si, deve ser realizada a diluição do sangue, que pode ser feita de duas formas, chamadas de micro e macrodiluição. A microdiluição é feita da seguinte forma:

- Homogeneizar o sangue;
- Aspirar sangue até a marca de 0,5 da pipeta de Thomas (pipeta para leucócitos, com bolinha de cor branca em seu interior);
- Limpar o exterior da pipeta, com papel ou gaze;
- Aspirar o líquido diluidor até a marca 11 (diluição de 1:20);



- Agitar a pipeta durante dois minutos em agitador ou cinco minutos manualmente;
- Desprezar as primeiras gotas e colocar quantidade suficiente para preencher um dos lados da câmara de Neubauer;
- Aguardar três minutos para que os leucócitos se sedimentem;
- Focalizar com a objetiva de 10x o retículo da câmara e proceder à contagem.

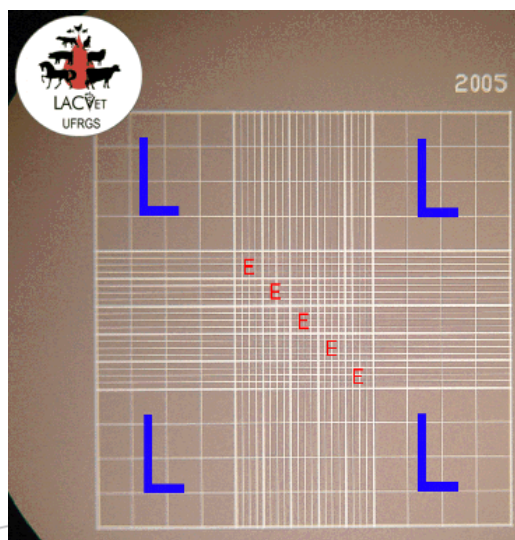
Já a macrodiluição é realizada em tubo de ensaio comum, seguindo as seguintes proporções:

- Pipetar 0,38 do líquido diluidor;
- Pipetar 20 µl de sangue;
- Utilizar a própria pipeta para homogeneizar a diluição;
- Preencher um lado da câmara de Neubauer;
- Aguardar três minutos para que os leucócitos se sedimentem;
- Focalizar com a objetiva de 10x o retículo da câmara e proceder à contagem.

O líquido diluidor utilizado para a contagem de leucócitos é o Türk que pode ser adquirido pronto, em fórmulas comerciais, ou preparado nas proporções de 1 ml de ácido acético glacial, 1 ml de violeta genciana 1% e 100 ml de água destilada, filtrados em papel filtro. A contagem de leucócitos é realizada no retículo da câmara, nos quatro quadrados externos (Figura 101). Contam-se apenas os leucócitos observados no interior do quadrado e aqueles que estiverem nas linhas superior e esquerda.

A soma dos números obtidos nos quatro quadrados é multiplicada por 50, tendo-se a leucometria global. A multiplicação da soma é feita por 50 porque a profundidade da câmara é de 1 mm (multiplica-se por 10), a diluição é feita na proporção de 1:20 (multiplica-se por 20) e cada quadrado contado equivale a 1 mm², totalizando 4 mm² (dividi-se por 4). Alguns autores indicam o arredondamento do valor pipetado do líquido na macrodiluição para 0,4 ml e então multiplicar a soma dos quadrados por 52,5.

FIGURA 101 - RETÍCULO DA CÂMARA DE NEUBAUER COM SUAS DIVISÕES E INDICAÇÃO DOS LOCAIS DE CONTAGEM DE LEUCÓCITOS (L) E ERITRÓCITOS (E)



FONTE: Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/leucocitos_files/neubauer_contagem.gif>.

Acesso em: 14 fev. 2009.

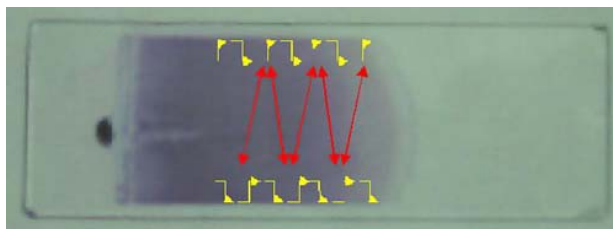
26.1.10 Leucometria Diferencial

Assim, como a leucometria global, a leucometria diferencial é responsável pela contagem de leucócitos, porém é a contagem baseada nos cinco tipos de leucócitos normalmente encontrados no sangue (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos). A leucometria diferencial é realizada no esfregaço sanguíneo corado (abordado no próximo item), determinando-se a porcentagem de cada tipo de leucócito em 100 células brancas a cada 10.000 contadas na leucometria global.

A contagem é realizada no terço central ou da metade para o final do esfregaço sanguíneo (Figura 102). Ali, se lê a lâmina como o formato de uma barra grega de costura (setas amarelas da figura), contando 50 células brancas em cada lateral; ou cruzando-se o esfregaço de um lado ao outro e contando os leucócitos

até totalizar cem (setas vermelhas da figura).

FIGURA 102 - MANEIRAS DE SE REALIZAR A CONTAGEM DIFERENCIAL DE LEUCÓCITOS



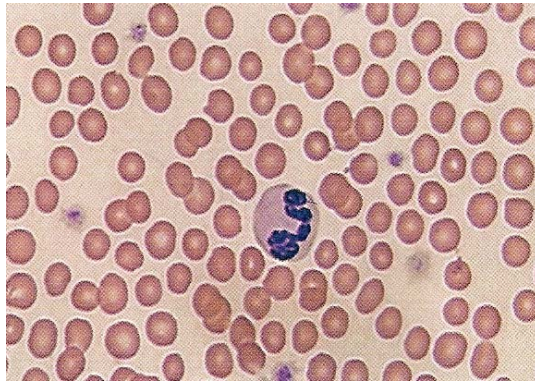
FONTE: Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/diferencial_files/lamina1.jpg>.

Acesso em: 14 fev. 2009.

Para realizar a leucometria diferencial é importante que se conheça a morfologia habitual de cada um dos leucócitos e também suas alterações morfológicas, pois serão contados tanto leucócitos “normais” (sem alterações morfológicas) como os alterados (que terão suas alterações morfológicas registradas nas observações do hemograma). A morfologia habitual de cada um dos leucócitos é a seguinte:

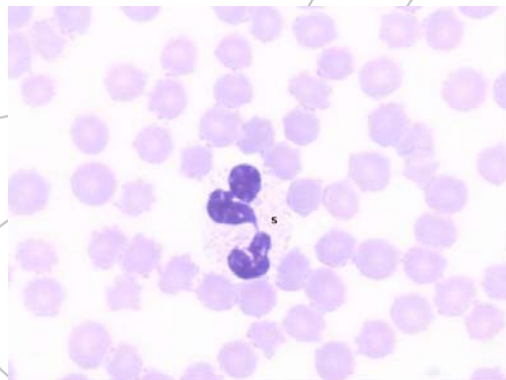
- Neutrófilos segmentados: nos cães e gatos (Figura 103), geralmente se apresenta com núcleo lobulado em três ou quatro segmentos com citoplasma sem granulação evidente; em bovinos (Figura 104), equinos e ovinos, seu citoplasma pode apresentar pequenas granulações róseas. São encontrados em grandes porcentagens nos esfregaços sanguíneos dos animais (Tabela 20).

FIGURA 103 - NEUTRÓFILO DE GATO (WRIGHT MODIFICADO, 100X)



FONTE: Sink e Feldman, 2006.

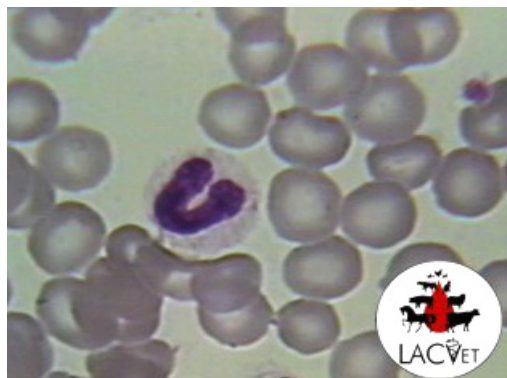
FIGURA 104 - NEUTRÓFILO DE BOVINO (S)



FONTE: Garcia-Navarro, 2005.

- Neutrófilos em bastão: possuem o núcleo com o formato semelhante a uma ferradura ou a letra C, sem apresentar segmentações; seu citoplasma é idêntico ao do segmentado, conforme a espécie em questão (Figura 105). Os bastões ou bastonetes podem não ser vistos ou encontrados em pequenos números nos esfregaços sanguíneos de animais saudáveis (Tabela 21).

FIGURA 105 - NEUTRÓFILO EM BASTÃO, SANGUE DE CÃO

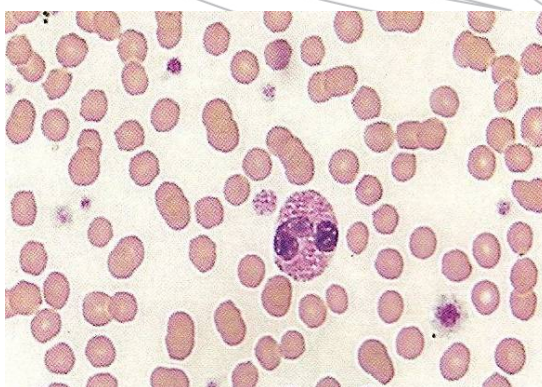


FONTE: Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/hemato_caninos.htm>.

Acesso em: 27 set. 2008.

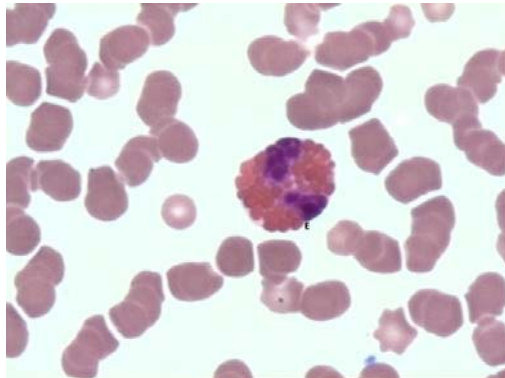
- Eosinófilos: possuem núcleo segmentado assim como o neutrófilo, geralmente com dois a três lóbulos; seu citoplasma apresenta grânulos cor de rosa (a coloração é idêntica à apresentada pelos eritrócitos no mesmo esfregaço), devido à afinidade pelo corante eosina. Nos eosinófilos dos animais, o que geralmente varia é o tamanho dos grânulos, que nos cães podem ser desde pequeninos até grandes e diversos em gatos (Figura 106), e grandes e em menor número em equinos (Figura 107). São moderadamente vistos em animais saudáveis (Tabela 22).

FIGURA 106 - EOSINÓFILO DE GATO (WRIGHT MODIFICADO, 100X)



FONTE: Sink e Feldman, 2006.

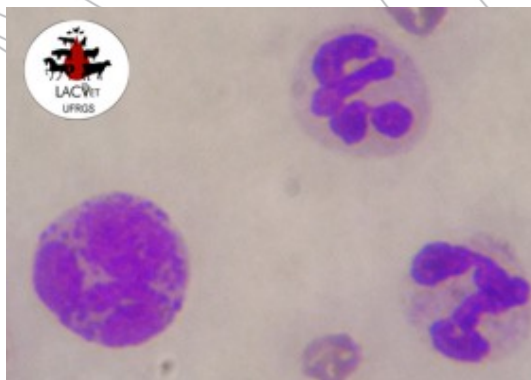
FIGURA 107 - EOSINÓFILO DE CAVALO (E)



FONTE: Garcia-Navarro, 2005.

- Basófilos: possuem núcleo segmentado, com poucos lóbulos, como os eosinófilos, que pode estar encoberto por seus grânulos, de cor púrpura à negra, devido à afinidade pelo azul de metileno. Cães geralmente possuem poucos grânulos em seus basófilos (Figura 108), enquanto bovinos (Figura 109) e equinos possuem maior número destes grânulos. Os basófilos são vistas em pequenas quantidades no esfregaço sanguíneo habitual, podendo nem ser observado.

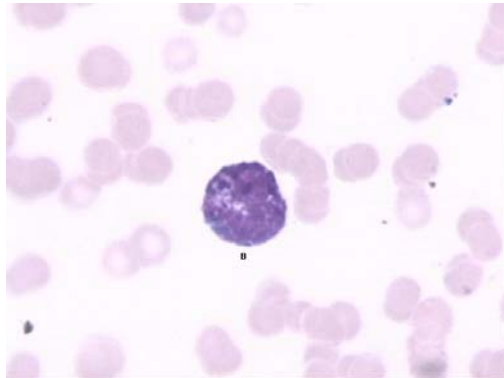
FIGURA 108 - UM BASÓFILO E DOIS NEUTRÓFILOS DE CÃO



FONTE: Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/hemato_caninos.htm>.

Acesso em: 27 set. 2008.

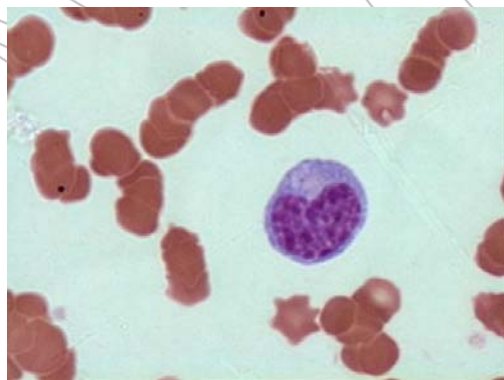
FIGURA 109 - BASÓFILO DE BOVINO (B) E ERITRÓCITO PARASITADO POR *ANAPLASMA MARGINALE* À DIREITA



FONTE: Garcia-Navarro, 2005.

- Monócitos: possuem núcleo com formato amplamente variável, desde redondo, levemente chanfrado (Figura 110), ou muito chanfrado (Figura 111), com a forma de um rim, a até mesmo irregular, tipo ameboide. O citoplasma dos monócitos é mais acinzentado que azulado e pode apresentar pequenos vacúolos. Pequena quantidade de monócitos é observada nos esfregaços sanguíneos normais (Tabela 24).

FIGURA 110 - MONÓCITO DE CAVALO



FONTE: Garcia-Navarro, 2005.

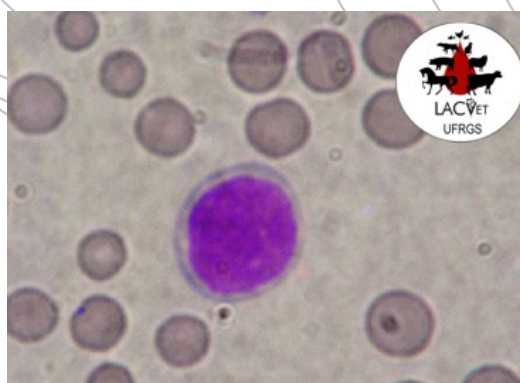
FIGURA 111 - MONÓCITO DE CÃO (WRIGHT MODIFICADO, 100X)



FONTE: SlnK e Feldman, 2006.

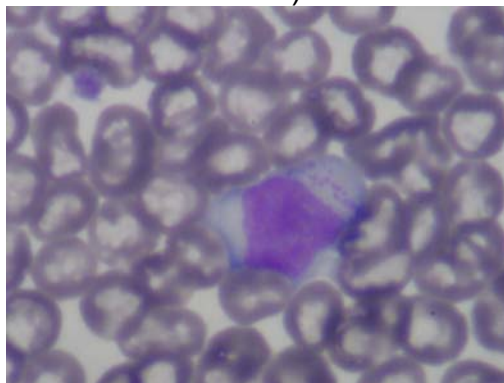
- Linfócitos: possuem núcleo redondo ou ligeiramente achatado em uma de suas porções; seu citoplasma é de um azul límpido (Figura 112), mas podem ser observadas as granulações azurófilas (Figura 113), fisiológicas. Não há diferenças marcantes entre as espécies, mas podem ser observados linfócitos de tamanhos diferentes, desde pequenos, pouco maiores do que uma hemácia, até grandes. Os linfócitos são geralmente observados em grandes porcentagens nos esfregaços (Tabela 25).

FIGURA 112 - LINFÓCITO DE BOVINO

FONTE: Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/hemato_bovinos.htm>.

Acesso em: 27 set. 2008.

FIGURA 113 - GRANULAÇÕES AZURÓFILAS EM LINFÓCITO DE CÃO (GIEMSA, 100X)



FONTE: Profa. Dra. Veronica Jorge Babo-Terra, ano.

Com a leucometria diferencial obtém-se a porcentagem de cada leucócito, denominada de valor relativo e a partir dela, em associação à LG, é possível determinar o valor absoluto de cada um dos leucócitos por milímetro cúbico de sangue:

$$\text{Valor absoluto (/mm}^3\text{)} = \frac{\text{LG} \times \text{valor relativo}}{100}$$

Para fins de interpretação do exame, o valor absoluto é significativamente mais importante do que o valor relativo. O valor relativo considera o percentual de cada tipo de leucócito em um total de 100, já o valor absoluto, como é calculado a partir da leucometria global, demonstra a quantidade real de cada leucócito no organismo do animal, refletindo suas condições de saúde naquele momento.

TABELA 20 - VALORES RELATIVOS E ABSOLUTOS DOS LEUCÓCITOS NOS ANIMAIS DOMÉSTICOS

	Bastões	Segmentados	Eosinófilos	Basófilos	Monócitos	Linfócitos
Bovinos	0-2 (0-240)	15-45 (600-5400)	2-20 (80-2400)	0-2 (0-240)	2-7 (80-840)	45-75 (1800-9000)
Cães, > 3 meses	0-1 (0-173)	46-68 (3910-11764)	1-5 (85-865)	0	1-10 (85-1730)	30-48 (2550-8304)
Cães, 3 a 6 meses	0-1 (0-160)	47-69 (3760-11040)	1-5 (80-800)	0	1-10 (80-1600)	28-45 (2240-7200)
Cães, 6 a 12 meses	0-1 (0-160)	55-70 (4400-11200)	1-6 (80-960)	0-1 (0-160)	2-8 (160-1280)	20-40 (1600-6400)
Cães, 1 a 8 anos	0-3 (0-540)	60-77 (3000-11500)	2-10 (100-1250)	0	3-10 (150-1350)	12-30 (1000-4800)
Cães, > 8 anos	0-1 (0-160)	55-80 (3300-12800)	1-9 (60-1440)	0	1-6 (60-960)	13-40 (780-6400)
Caprinos	0-2 (0-320)	30-48 (1800-7680)	3-8 (180-1280)	0-2 (0-320)	1-4 (60-640)	50-70 (3000-11200)
Equinos	0-2 (0-280)	30-65 (2100-9100)	1-11 (35-1540)	0-3 (0-420)	1-7 (35-980)	25-70 (1750-9800)
Gatos, < 6 meses	0-1 (0-170)	40-75 (2400-12750)	1-10 (60-1700)	0-1 (0-170)	1-4 (60-680)	20-50 (120-8500)
Gatos, > 6 meses	0-3 (0-300)	35-75 (2800-18750)	2-12 (160-3000)	0-1 (0-195)	1-4 (80-1000)	20-55 (1600-13750)
Ovinos	0-2 (0-240)	10-50 (400-6000)	1-10 (40-1200)	0-3 (0-360)	1-6 (40-720)	40-75 (1600-9000)
Suínos	0-4 (0-880)	28-47 (3080-10340)	1-11 (55-2420)	0-2 (0-440)	2-10 (220-2200)	25-60 (4290-13640)

FONTE: Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2008.

O valor absoluto de cada um dos tipos de leucócitos permite identificar qual deles é responsável pela diminuição ou aumento do valor total de leucócitos, e ainda verificar as situações em que a LG se mantém dentro dos intervalos de referência, porém há alterações específicas, por exemplo, uma neutrofilia. Nos resultados dos hemogramas costuma-se anotar tanto os valores relativos como absolutos e registrar se há alteração em algum destes valores.

Caso a alteração ocorra nos dois casos, anota-se apenas a do valor absoluto. Quando apenas o valor relativo encontra-se alterado, mas o valor absoluto está dentro dos valores de referência, isto pode apenas indicar interferência nas porcentagens dos tipos de leucócitos, mas não significa uma alteração necessariamente verdadeira.

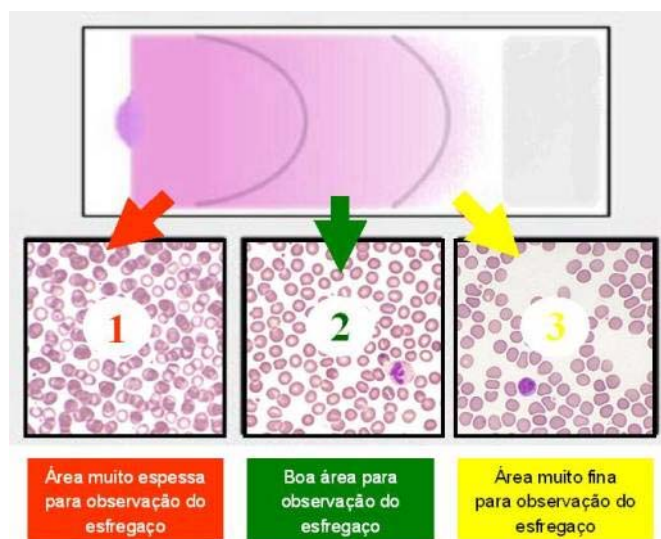
26.1.11 Esfregaço Sanguíneo

A confecção do esfregaço sanguíneo é etapa significativa em um hemograma, pois possibilita a leucometria diferencial, a estimativa do número de leucócitos e plaquetas por microlitro de sangue, a avaliação morfológica das células sanguíneas e também a pesquisa de parasitas sanguíneos. Os materiais necessários para confeccionar o esfregaço de sangue são: lâminas de vidro limpas, desengorduradas e secas; lâminas extensoras e a própria amostra de sangue. Os passos são os seguintes:

- a) Homogeneizar o sangue;
- b) Segurar a lâmina com o polegar e o indicador da mão esquerda ou apoiar sobre superfície limpa;
- c) Colocar uma pequena gota de sangue próxima à direita da lâmina;
- d) Tocar a gota de sangue com as costas da extensora em um ângulo de 30 a 45°;
- e) Aguardar que o sangue se espalhe pelo bordo da extensora e então deslizá-la de modo suave e contínuo até a direção oposta;
- f) Secar a lâmina ao ar e identificá-la com lápis diretamente sobre a parte espessa do esfregaço ou sobre etiqueta de papel (não são usadas canetas esferográficas, pois os corantes removem esse tipo de identificação);
- g) Corar o esfregaço sanguíneo.

Algumas observações importantes são o fato de que quanto menos sangue colocado na gota, mais delgado será o esfregaço; que quanto maior a pressão da extensora sobre a lâmina e quanto menor o ângulo entre elas, o esfregaço também ficará mais fino. Características de um bom esfregaço incluem os bordos retos, a ocupação de cerca de dois terços da lâmina, o término em franja e a extensão uniforme, lisa e sem buracos ou ondulações (Figura 114).

FIGURA 114 - ESFREGAÇO SANGUÍNEO E DISTRIBUIÇÃO DAS CÉLULAS



FONTE: Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/esfregaco_files/esfreg4.jpg>.

Acesso em: 25 maio 2009.

A coloração do esfregaço pode ser feita utilizando dois métodos de coloração, os manuais e os automáticos. Os primeiros utilizam corantes que podem ser de dois tipos, tipo Romanowsky ou rápido, tipo Panótico. Já nos métodos de coloração automáticos, utilizam-se corantes que possibilitam velocidade, contudo são geralmente mais caros do que os corantes utilizados manualmente.

Os corantes de Romanowsky foram idealizados pelo cientista Romanowsky, que imaginou um método no qual uma solução de corantes poderia corar diferentes estruturas a partir da mistura dos corantes eosina e azul de metileno, preparadas por vários autores: Leishman, May-Grunwald, Giemsa, Wright e outros (que doam seus respectivos nomes ao corante, segundo Leishman, MGG, etc.). Estes corantes são dissolvidos em álcool, geralmente o metanol, e, além disso, na solução envelhecida, o azul de metileno se oxida em gradações diferentes, originando diversos azuis de metileno, resultando então uma solução alcoólica de um complexo de azuis de metileno.

Cada corante possui características químicas e afinidades diferenciadas. Assim, quando uma estrutura se cora, revelando a mesma cor do corante, diz-se que é uma coloração ortocromática e quando a estrutura toma uma cor diferente daquela do corante, diz-se que é uma coloração metacromática. Os corantes

utilizados, suas características e afinidades são:

- Eosina: é um corante ácido, que cora as estruturas acidófilas em tom rosa, como as hemácias devido à hemoglobina e os grânulos dos eosinófilos;
- Azuis de metileno: corante básico, que cora as estruturas basófilas em tom azul, como os núcleos, devido ao DNA e ao RNA e os grânulos dos basófilos;
- Azuis de metileno: cora as estruturas azurófilas em púrpura (metacromasia), como os lisossomos;
- Mistura complexa: cora as estruturas neutrófilas, em tom salmão, o que ocorre com alguns grânulos citoplasmáticos.

A coloração de um esfregaço por um corante tipo Romanowsky possui fases, separadas em:

- Fixação: na qual a preparação a ser corada é previamente fixada, geralmente com metanol. O corante Romanowsky, preparado em solução alcoólica, quando aplicado sobre a lâmina realiza esta etapa.
- Coloração: adiciona-se água de coloração (água tamponada com pH=7,0 ou água destilada recentemente fervida) sobre o corante, ionizam-se os sais contidos na solução.
- Lavagem: após a coloração, as lâminas são lavadas sob jato de água corrente e então secas ao ar.

Estas etapas devem ser realizadas seguindo-se fielmente as recomendações do fabricante. Alguns procedimentos contribuem para a qualidade da coloração, tais como a filtração do corante, que pode se precipitar; substituição ou rediluição dos corantes; e, limpeza dos frascos com a mesma frequência da troca de corantes. Além destes cuidados, se não tomados, outros podem causar problemas na coloração, entre eles mudanças no pH dos corantes (muito ácidos ou muito alcalinos), tempo insuficiente nos corantes, diluição do corante, bem como excesso de lavagem.

Nas colorações tipo Panótico ou de Pappenheim, merecidamente chamadas de rápidas, a coloração é realizada imergindo a extensão sanguínea por 10 segundos em cada um dos três componentes da coloração, na ordem indicada, alternando o mesmo tempo de imersão com a retirada do excesso de corante

tocando a ponta da lâmina de vidro em um papel absorvente. Os líquidos desta colocação são vendidos em conjunto e possuem custo baixo, contudo a durabilidade dos esfregaços corados com Panótico são frequentemente inferiores àqueles corados com Giemsa.

A avaliação do esfregaço sanguíneo consiste em:

- a) Avaliar a qualidade do esfregaço quanto à sua extensão e sua coloração, observando-o com a lente de baixo aumento;
- b) Localizar áreas em que as células estão distribuídas em monocamadas (eritrócitos não se sobrepõem e os leucócitos estão bem distendidos, sem distorções), pois estas são adequadas à contagem;
- c) Realizar a leucometria diferencial; avaliar as anormalidades morfológicas de eritrócitos, neutrófilos ou demais leucócitos, e registrá-las; estimar a contagem de plaquetas e realizar a pesquisa de hemoparasitas.

Avaliação morfológica das células do sangue

As alterações morfológicas das células sanguíneas, com sua aparência e interpretação, foram abordadas nos módulos específicos sobre cada uma destas células. Aqui, no processamento da amostra, é importante verificar a presença destas alterações, o que é realizado durante a leucometria diferencial, e mesmo após sua realização. Durante a leucometria diferencial, são contados tanto leucócitos morfolologicamente normais quanto leucócitos alterados, conforme dito anteriormente. Ainda que a contagem esteja centrada nos leucócitos, todas as células sanguíneas são verificadas quanto à morfologia e à disposição (Tabelas 21, 22 e 23).

TABELA 21 - ALTERAÇÕES QUE PODEM SER VISTAS NOS ERITRÓCITOS EM ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS

	Tipo de alteração	Alterações específicas
Eritrócitos	Células jovens	Rubroblasto
		Prorrubrócito
		Rubrócito (basófilo ou policromatófilo)
		Metarrubrócito
		Reticulócito (policromatofilia)
	Tamanho	Anisocitose
		Microcitose
		Macrocitose
	Coloração	Policromatofilia ou policromasia
		Hipercromia
		Hipocromia
	Disposição	Rouleaux
		Hemoaglutinação
	Formato	Poiquilocitose
		Hemácias em alvo, leptócitos ou codócitos
		Excentrócitos
		Esferócitos
		Hemácias-fantasma
		Acantócitos, equinócitos ou <i>burr-cells</i>
		Crenação
		Eliptócitos ou ovalócitos
		Estomatócitos
		Esquistócitos
		Queratócitos
		Dacriócitos
	Inclusões	Corpúsculo de Howell-Jolly
		Corpúsculo de Heinz
		Ponteado basófilo
		Inclusões virais (corpúsculo de <i>Lentz</i>)

TABELA 22 - ALTERAÇÕES QUE PODEM SER VISTAS NOS LEUCÓCITOS EM ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS

	Tipo de leucócito	Tipo de alteração	Alterações específicas
	Todos	Disposição	Aglomerados ou agregados
Leucócitos	Neutrófilos	Desvio nuclear à esquerda	Mieloblasto
			Promielócito
			Mielócito
			Metamielócito
			Bastão
		Desvio nuclear à direita	Hipersegmentação
		Alteração nuclear	Corpúsculo de <i>Barr</i> ou cromatina sexual
			Anomalia de <i>Pelger-Hüet</i>
		Toxicidade	Basofilia citoplasmática
			Vacuolização tóxica
			Granulação tóxica
			Corpúsculo de <i>Döhle</i>
		Inclusões	Fagocitose (microrganismo, eritrócitos)
			Inclusões virais (corpúsculo de <i>Lentz</i>)
	Monócitos		Monócitos ativados
	Linfócitos		Linfócitos reacionais ou atípicos
			Inclusões virais (corpúsculo de <i>Lentz</i>)

TABELA 23 - ALTERAÇÕES QUE PODEM SER VISTAS EM PLAQUETAS EM ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS

Plaquetas	Tipo de alteração	Alterações específicas
	Tamanho	Macroplaquetas ou plaquetas de estresse
	Atividade	Plaquetas ativadas
	Disposição	Aglomerados ou agregados

Além de observar as alterações morfológicas, pode ser registrada a frequência com que estas aparecem no esfregaço, indicando a intensidade com que ocorrem e contribuindo para interpretação clínica do exame. A frequência dessas



anormalidades pode ser apontada da seguinte forma:

- Média de alterações em eritrócitos em campos de 100x de aumento:
 - Policromatofilia em cães: 2 a 7%, leve; 8 a 14%, moderada; e, maior do que 14%, intensa;
 - Policromatofilia em gatos: 1 a 2%, leve; 3 a 8%, moderada; e, maior do que 8%, intensa;
 - Hipocromia: 1 a 10%, leve; 11 a 50%, moderada; e, maior do que 50%, intensa;
 - Hemácias-alvo: 1 a 5%, leve; 6 a 15%, moderada; e, maior do que 15%, intensa;
 - Esferócitos, micrócitos, macrócitos: 1 a 10%, leve; 11 a 50%, moderada; e, maior do que 50%, intensa;
 - Poiquilócitos, corpúsculos de *Heinz* e ponteados basófilos: 1 a 2%, leve; 3 a 8%, moderada; e, maior do que 8%, intensa;
- Média de alterações tóxicas em neutrófilos em campos de 100x de aumento:
 - Basofilia citoplasmática, vacuolização tóxica: 1 a 10%, leve;
 - Basofilia citoplasmática, vacuolização ou granulações tóxicas, corpúsculos de *Döhle*: 11 a 50%, moderada;
 - Basofilia citoplasmática, vacuolização ou granulações tóxicas, corpúsculos de *Döhle*: maior do que 50%, intensa.

Estimativa de leucócitos e plaquetas

Outra avaliação, geralmente realizada nos esfregaços sanguíneos, é a estimativa da leucometria global e da plaquetometria; esta estimativa serve para confirmar a contagem realizada na câmara de Neubauer ou de modo automatizado. O procedimento para estimar leucócitos é realizado em um ponto do esfregaço no qual os eritrócitos estão distribuídos em monocamada uniforme. Utilizando a objetiva de 50x, o número médio de leucócitos presentes em dez campos deve ser contado, e então se faz a conta a seguir:

$$\text{Número médio de leucócitos / campo} \times 2000 = \text{número de leucócitos / } \mu\text{l}$$



Para estimar o número de plaquetas, o procedimento é idêntico, com a diferença que se utiliza a objetiva de 100x e na fórmula a multiplicação é feita por 20.000. A média de plaquetas por campos de 100x também pode servir para avaliá-las:

- Cães:
 - Menos de três plaquetas/ campo – número acentuadamente reduzido;
 - Entre quatro e nove plaquetas/ campo – número reduzido;
 - Entre 10 e 25 plaquetas/ campo – número dentro do intervalo de referência;
 - Mais do que 26 plaquetas/ campo – número aumentado.
- Gatos:
 - Menos de três plaquetas/ campo – número acentuadamente reduzido;
 - Entre quatro e 14 plaquetas/ campo – número reduzido;
 - Entre 15 e 40 plaquetas/ campo – número dentro do intervalo de referência;
 - Mais do que 41 plaquetas/ campo – número aumentado.

Pesquisa de hemoparasitas

Os hemoparasitas que podem ser vistos nos esfregaços sanguíneos foram descritos conforme o tipo celular abordado nos módulos anteriores; aqui nos prenderemos a técnica em si, para a pesquisa destes.

26.1.12 Plaquetometria

A plaquetometria ou contagem de plaquetas é realizada em amostras de sangue coletadas com EDTA e acondicionadas em tubos plásticos ou de silicone, pois o vidro provoca adesão plaquetária ao frasco prejudicando a contagem. Ela também pode ser realizada em sangue coletado com citrato, mas deve-se atentar para o fato de que a quantidade presente deste anticoagulante em tubos comerciais para coletas de sangue excede a diluição obtida nas mesmas coletas com EDTA; assim, plaquetometrias realizadas em sangue coletado com citrato de sódio devem



ser corrigidas com um fator de aumento de 1,1.

Três métodos diferentes podem ser utilizados na plaquetometria, o manual, a impedância elétrica e a citometria de fluxo. No método manual, as plaquetas podem ser estimadas na extensão sanguínea, como descrito, ou contadas utilizando-se microscópio ótico, micropipeta de diluição de eritrócitos e câmara de Neubauer. Podem ser empregados três diferentes diluidores, Líquido de *Rees & Ecker*, Líquido de *Laেকেট & Gy*, e Líquido de *Wright & Kinnicut*; os dois primeiros têm a desvantagem de preservar os eritrócitos, enquanto o terceiro não. A técnica consiste em:

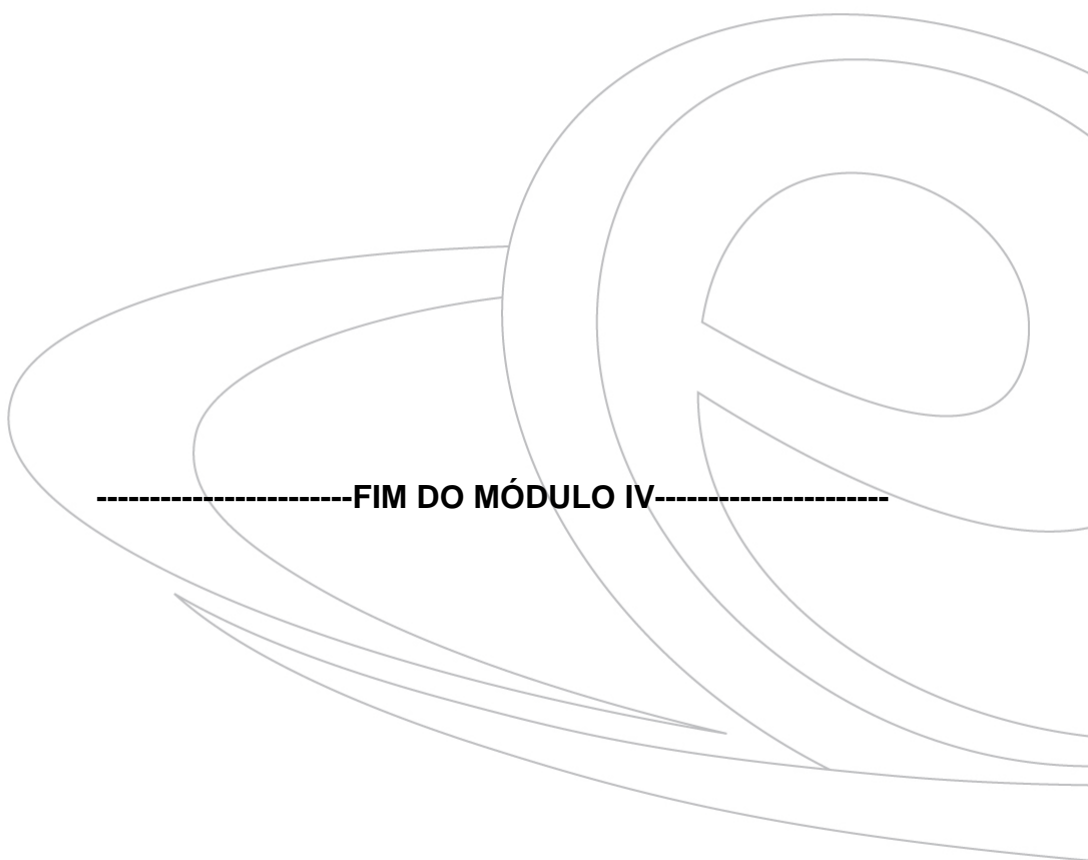
- Aspirar sangue homogeneizado com EDTA até a marca de 0,5 na pipeta de eritrócitos;
- Aspirar líquido diluente até a marca de 101 (diluição 1:200); desprezar as duas primeiras gotas;
- Agitar bem, cerca de um minuto;
- Preencher os dois retículos da câmara de Neubauer;
- Colocar a câmara sob uma placa de Petri invertida, contendo um pedaço de algodão embebido em água por 15 minutos. O algodão molhado impede a desidratação do retículo e das plaquetas, pois o tempo é necessário para a sedimentação das mesmas;
- Fazer a contagem das plaquetas no microscópio.

As plaquetas devem ser contadas em todos os quadradinhos do retículo, dos dois lados da câmara. Elas são vistas como corpúsculos refratários, com diâmetro correspondente a um terço ou um quinto dos eritrócitos. Se o microscópio tiver contraste de fase (Ph2), será amplamente mais fácil contar as plaquetas, e evitará que sejam confundidas com bactérias ou artefatos. O resultado final da contagem deve ser multiplicado por mil e então se obtém o número de plaquetas por μl de sangue. Os valores normais de plaquetas nos animais são:

- Cães: 200 a 500 mil plaquetas / μl de sangue;
- Gatos: 200 a 500 mil plaquetas / μl de sangue;
- Equinos: 100 a 600 mil plaquetas / μl de sangue;
- Bovinos: 200 a 800 mil plaquetas / μl de sangue.



No segundo método, de impedância elétrica, são utilizados os contadores automáticos, que trabalham de modo semelhante à hematimetria e à leucometria global. De qualquer modo, no caso das plaquetas, os autores sempre recomendam confirmar a contagem realizada automaticamente por meio da estimativa em lâmina. Já a citometria de fluxo utiliza *laser* e é o método mais recente de contagem de células sanguíneas, porém seu uso em Medicina Veterinária ainda se encontra limitado.



-----FIM DO MÓDULO IV-----