

Orientações de coleta  
**Exames hematologia e  
coagulação - pets**



**CDMA**

Centro de Diagnóstico e Monitoramento Animal

## **Manual de Colheita de material para Hematologia**

Os exames de Hematologia podem ser executados perfeitamente com sangue venoso.

### **TIPOS DE AMOSTRAS**

A amostra biológica destinada ao laboratório pode ser classificada da seguinte maneira:

#### **SANGUE TOTAL**

Colher por punção venosa utilizando o frasco a vácuo ou puncionar a veia com seringa e coletar de 0,25 a 3 mL de sangue. Este procedimento deve demorar no máximo 2 minutos. Homogeneizar por no mínimo 30 segundos. Transferir imediatamente a amostra para o tubo com anticoagulante EDTA (microcoleta 0,5 ml ou tubo de 4ml), tomando cuidado com os volumes máximos (0,5 ml em microcoleta e 4 ml em tubo maior) e mínimos (50% do volume máximo). Como o EDTA tem baixa solubilidade, a amostra tem que ser bem homogeneizada com movimentos amplos e circulares ou movimentos amplos de pendulo, com cuidado com os tubos de microcoleta onde a amostra não se homogeneiza bem, devido ao pouco espaço para homogeneização.

Para hemograma, leucograma, avaliação de plaquetas e pesquisa de hematozoários, realizar esfregaço sanguíneo. Fixar os esfregaços ao ar em temperatura ambiente e então encaminhar ao laboratório.

A amostra de sangue com EDTA deve ser mantida em refrigeração (2 e 8°C), sendo encaminhada ao laboratório o mais rápido possível, uma vez que o ideal é que ela seja avaliada nas primeiras 24 horas e no máximo em 48 horas.

#### **PLASMA SANGUÍNEO**

É o sobrenadante do sangue total com anticoagulante após centrifugação das células do sangue. Esse procedimento é realizado no laboratório e é indicado para determinação de fatores da coagulação, sendo que para estes testes deve ser utilizado o Citrato de sódio (tubo com tampa azul) como anticoagulante e não o EDTA e ou Heparina e ou Fluoreto de sódio. Para testes de hemostasia a amostra no Citrato deve estar no laboratório em no máximo 6h após ter sido coletada.

## **ANTICOAGULANTES**

Para a preservação de uma amostra biológica de sangue para hematologia se faz necessário o uso de anticoagulante específico.

### **- EDTA (ÁCIDO ETILENO DIAMINOTETRACÉTICO) – TUBO DE TAMPA ROXA**

Este anticoagulante age neutralizando por quelação os sais de cálcio (fator IV da cascata de coagulação), que são fundamentais para os processos de formação do coágulo. É o anticoagulante de escolha em hematologia, pois, se usado corretamente, é o que melhor preserva as células e suas características morfológicas.

Existem tubos de microcoleta com EDTA para inibir a coagulação de até 500 microlitros da amostra e tubos de 4ml com EDTA para inibir a coagulação de até 4ml de sangue.

### **- HEPARINA – TUBO DE TAMPA VERDE**

A heparina evita a coagulação sangüínea por interferir especificamente com a conversão da protrombina em trombina. Não é efetiva por um período superior a 1 dia. Pode ser empregada quando se pretende fazer análises bioquímicas e ou hormonais em uma mesma amostra. Existem tubos de microcoleta com Heparina para inibir a coagulação de até 500 microlitros da amostra e tubos de 4ml com Heparina para inibir a coagulação de até 4ml de sangue.

### **- CITRATO DE SÓDIO – TUBO DE TAMPA AZUL**

O citrato de sódio age quelando cálcio impedindo o processo de coagulação.

É empregado na conservação do sangue para as análises de fibrinogênio, tempo de protrombina, tromboplastina parcial ativada - a coagulometria completa, anticoagulante para estudos de coagulação. Para conservação do sangue utiliza-se 1 parte de anticoagulante para 4 de sangue total (1:4) sendo de especifica importância para análise correta.

## **- ESFREGAÇO SANGUÍNEO**

Utilizado para pesquisa de hemoparasitas, sem a interferência de anticoagulantes (*Anaplasma*, *Babesia*, *Filaria*, *Ehrlichia*, *Trypanosoma*). Realizados ainda para verificar as características morfológicas dos eritrócitos, para contagem diferencial de leucócitos, contagem de plaquetas, eritroblastos, preferencialmente em esfregaço de gota de sangue sem anticoagulante, imediatamente após a coleta e de preferência com sangue de extremidades, como por exemplo ponta de orelhas e ou unha.

### **COMO FAZER UM ESFREGAÇO:**

1. Manter a lâmina horizontalmente entre o polegar e o indicador.
2. Colocar uma pequena gota de sangue na extremidade da lâmina.
3. Com uma segunda lâmina colocar o seu rebordo livre contra a superfície da primeira, em frente à gota de sangue, formando um ângulo de 45°.
4. Realizar um movimento para trás de modo que entre em contato com a gota de sangue, pressionando-a até que a gota se espalhe por toda a borda da lâmina.
5. Impelir a lâmina, guardando sempre o mesmo ângulo, em um só movimento, firme e uniforme, sem separar uma lâmina da outra. Forma-se então uma delgada camada de sangue.
6. Secar rapidamente ao ar, conservar em temperatura ambiente e identificar com lápis na extremidade da lâmina sobre o próprio esfregaço, depois de seco ao ar.

### **OBSERVAÇÕES IMPORTANTES**

- É conveniente fazer vários esfregaços da mesma amostra.
- O esfregaço deve ser feito com sangue recém colhido sem anticoagulante.
- A lâmina tem que estar limpa e desengordurada.
- A gota de sangue não deve ser muito grande. Quanto maior for a gota, mais espesso será o esfregaço.
- A distensão deve ser feita rapidamente, antes que comece a coagulação.
- Com uma gota de tamanho adequado, a distensão medirá mais ou menos 3 cm.
- A espessura da distensão está na dependência do ângulo formado pelas duas lâminas, da pressão exercida e da velocidade da mesma.

- O esfregaço não deve cobrir toda a lâmina.
- O aspecto da distensão deve ser liso e nivelado, sem ondulações, poros ou saliências.
- A ausência de cauda prejudica a pesquisa microscópica.
- A identificação pode ser feita diretamente na lâmina a lápis ou em etiquetas de papel.

## Exames Hematologia

### CONTAGEM GLOBAL DE PLAQUETAS

**Comentários** Avalia quantitativamente as plaquetas.

**Método** contagem manual em microscopia em lâminas com esfregaço sanguíneo corado por técnicas de rotina hematológica.

**Condição** Sangue total (0,5 a 2,0mL) colhido em tubo de tampa roxa (EDTA). Serão rejeitadas as amostras com presença de coágulo e hemólise.

**Conservação para envio** Enviar o tubo com EDTA e a amostra em temperatura entre 2 e 8°C em até o máximo de 48 horas após a coleta.

### ERITROGRAMA

**Método:** Automatizado com verificação em esfregaços sanguíneos corados por microscopia de luz.

**Condição** Sangue total (mínimo 1,0 mL) colhido em tubo de tampa roxa (EDTA). Serão rejeitadas as amostras com presença de coágulo e hemólise.

**Conservação para envio** Enviar à temperatura entre 2° e 8°C em até no máximo 48 horas após a coleta (mamíferos).

## HEMOGRAMA

**Comentários** É de importante auxílio diagnóstico não somente para doenças hematológicas, como também para muitas outras doenças de variadas etiologias. Rotineiramente indicado para avaliação de anemias, neoplasias hematológicas, reações infecciosas e inflamatórias agudas e crônicas, acompanhamento de terapias medicamentosas e avaliação de distúrbios plaquetários. Fornece dados para classificação das anemias de acordo com alterações na forma, tamanho, cor e estrutura das hemácias e conseqüentemente um direcionamento diagnóstico e terapêutico. Orienta na diferenciação entre infecções viróticas e bacterianas, parasitoses, inflamações, intoxicações e neoplasias através das contagens global e diferencial dos leucócitos e avaliação morfológica dos mesmos. Através de avaliação quantitativa e morfológica das plaquetas, sugere o diagnóstico de patologias congênitas e adquiridas.

**Método: Para mamíferos:** Contagem automatizada por citometria de fluxo com verificação das contagens e análise morfológica por microscopia óptica de luz em esfregaço sanguíneo corado.

**Condição** Sangue total (0,5 a 4,0mL) colhido em tubo de tampa roxa (EDTA) para mamíferos. Serão rejeitadas as amostras com presença de coágulo e hemólise.

De preferência dois esfregaços sanguíneos não corados quando for enviado fora da região de Belo Horizonte

As lâminas do esfregaço sanguíneo devem ser identificadas com o nome do paciente, secadas ao ar em temperatura ambiente e acondicionadas em frascos para transporte de lâminas.

**Conservação para envio:** Até 48 horas após a coleta, entre 2 e 8°C (mamíferos).

# Exames Coagulograma

## TEMPO DE PROTOMBINA TP

**Comentários** As utilizações mais comuns são para monitoramento de terapia anticoagulante oral, doenças hepáticas, deficiência de vitamina K e coagulação intravascular disseminada, situações nas quais o tempo de Protrombina/RNI pode encontrar-se prolongado.

**Método** Coagulométrico

**Condição** 0,5 a 1,0 mL de sangue total em tubo com citrato de sódio (tubo de tampa azul). Enviar no máximo 2 horas após a coleta. Coletar com o mínimo de trauma, sem garrotear. Centrifugar rapidamente após a coleta

**Conservação para envio** Até 6 horas em temperatura ambiente

## TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA – TTPA

**Comentários** O TTPa é o mais sensível teste para avaliação dos fatores XII, XI, IX, VIII (via intrínseca), mas não para o FATOR VII (via extrínseca). É o teste mais usado para avaliação do decréscimo da atividade de um ou mais fatores. Indicado nos casos em que há tendência a hemorragia, antes de intervenções cirúrgicas. As causas mais comuns de TTPa prolongado são: coagulação intravascular disseminada, doença hepática, anticoagulantes circulantes, terapia heparínica, deficiência do fator VIII, deficiência do fator IX, uso de anticoagulantes orais, deficiência de vitamina K, hipofibrinogenemia, envenenamento por anticoagulantes.

**Método** Coagulométrico

**Condição** 0,5 a 1,0 mL de sangue total em tubo com citrato de sódio (tubo de tampa azul). Enviar no máximo 2 horas após a coleta. Coletar com o mínimo de trauma, sem garrotear.

**Conservação para envio** Até 4 horas em temperatura ambiente

## FIBRINOGENIO

**Comentários** O fibrinogênio é uma proteína de fase aguda, cujos níveis aumentam no início das moléstias inflamatórias e permanecem elevados até a resolução da

inflamação. Os níveis de fibrinogênio estão diminuídos na coagulação intravascular disseminada, fibrinólise e doença hepática e se apresentam elevados nos estados inflamatórios agudos.

**Método** Coagulométrico

**Condição** Coletar 3,0 mL de sangue total em tubo com citrato de sódio (tampa azul), centrifugar imediatamente e separar o plasma (1,0 mL de plasma). No caso do envio de material fora da cidade, amostra coletada deve ser centrifugada e obtendo-se o plasma, devendo esse ser enviado congelado.

**Conservação para envio** Enviar preferencialmente até 2 horas após a coleta ou até 7 dias congelado em temperatura inferior a - 4°C