

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) quando obtido de mamíferos e para o tubo com anticoagulante Heparina (microcoleta 0,5 ml ou tubo de 4ml) para aves, répteis e anfíbios, 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.

A amostra de sangue com HEPARINA 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.

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*, *Plasmodium* sp., *Haemoproteus* sp. e *Leucocytozoon* sp.). 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 DE RETICULÓCITOS (CANÍDEOS)

Comentários A contagem de reticulócitos é útil para avaliar atividade eritropoiética, sendo que valores aumentados indicam hiperatividade da medula óssea (reticulocitose) e valores diminuídos, hipoatividade da medula óssea (reticulocitopenia). É importante também para o diagnóstico diferencial das anemias e para acompanhar tratamento e monitorar resposta medular.

Método esfregaço corado por Azul de Cresil brilhante, em proporção de corante determinada conforme o Ht (VG) da amostra.

Condição 0,5 a 1,0 mL de sangue total (EDTA). Serão rejeitadas as amostras com presença de coágulo e com hemólise acentuada

Conservação para envio Enviar à temperatura entre 2° e 8°C até 48 horas após a coleta.

CONTAGEM DIFERENCIAL DE RETICULÓCITOS (FELINOS)

Comentários Em gatos podem ser encontrados mais de um tipo de reticulócitos (agregados ou pontilhados). Os reticulócitos agregados evoluem para a forma de ponteados (ou pontuados) em aproximadamente 12 horas e os ponteados permanecem assim por até 12 dias, quando se tornam eritrócitos maduros. Devido ao curto período de maturação dos reticulócitos agregados, essas células são os melhores indicadores de regeneração medular ativa. Portanto, em gatos, os reticulócitos tem que ser diferenciados entre agregados e ponteados, sendo

classificada como regenerativa (resposta medular) a condição em que há um maior número de Reticulócitos agregados.

Método Coloração por Azul de Cresil Brilhante, com esfregaço sendo feito após a incubação do sangue com o corante em banho maria..

Condição Sangue total (0,5 a 1,0 mL) colhido em tubo de tampa roxa (EDTA). Serão rejeitadas as amostras com presença de coágulo e ou hemólise.

Conservação para envio Enviar à temperatura entre 2° e 8°C até 48 horas após a coleta.

CONTAGEM GLOBAL DE PLAQUETAS (MAMÍFEROS)

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 (MAMÍFEROS, AVES, RÉPTEIS E ANFÍBIOS)

Método: Para mamíferos: Automatizado com verificação em esfregaços sanguíneos corados por microscopia de luz. **Para aves, répteis e anfíbios:** manual (contagem e análise morfológica por microscopia óptica de luz em esfregaço sanguíneo corado)

Condição Sangue total (mínimo 1,0 mL) colhido em tubo de tampa roxa (EDTA) para mamíferos ou tubo de tampa verde (Heparina) para aves, répteis e anfíbios. 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) e no máximo 24 horas após a coleta (aves, répteis, anfíbios).

HEMOGRAMA (MAMÍFEROS, AVES, RÉPTEIS E ANFÍBIOS)

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. **Para aves, répteis e anfíbios:** manual (contagem 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 ou tubo de tampa verde (Heparina) para aves, répteis e anfíbios (0,5ml ou 4ml). 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). Até 24 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