

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

DANIELA MOREIRA LUZ

**A IMPORTÂNCIA DA INVESTIGAÇÃO DE PLAQUETOPENIAS POR
MICROSCOPIA ÓPTICA**

UBERLÂNDIA - MG

2008

DANIELA MOREIRA LUZ

**A IMPORTÂNCIA DA INVESTIGAÇÃO DE PLAQUETOPENIAS POR
MICROSCOPIA ÓPTICA**

Trabalho apresentado à Academia de Ciência e Tecnologia como parte dos requisitos para conclusão de curso de pós-graduação “lato sensu” em Hematologia e Banco de Sangue.

Orientador: Prof. Dr. Paulo César Naoum

UBERLÂNDIA- MG
2008

RESUMO

As plaquetopenias devem ser criteriosamente avaliadas, uma vez que, associam-se com uma clínica de grau variado e de importante relevância. São decorrentes de diversos fatores, por isso muitas vezes este resultado culmina com a solicitação de novas exames para o esclarecimento do caso. A confiabilidade de um resultado de plaquetopenia representa numa boa e correta conduta médica frente a este caso. A microscopia óptica em casos diversos ainda se torna a melhor ferramenta para o descarte de uma plaquetopenia acusada pelo aparelho automatizado. O relato de caso apresentado aponta esta situação e vale ressaltar que, a suspeita de pseudoplaquetopenias deve sempre existir na ausência de clínica do paciente.

Palavras-chave: Plaquetopenias, pseudoplaquetopenias

ABSTRACT

The thrombocytopenias should be cautiously evaluated, since they are associated with a varied clinic degree and extremely relevant. They stem from many reasons, therefore this result for so many times appears with the solicitation of new exams for the clarification of the case. The trustfulness of a thrombocytopenia result represents a good and correct medical conduct towards this case. The optical microscopy in several cases becomes the best tool for the elimination of a thrombocytopenia accused by the automatized equipment. The presented case reveals this situation, and more importantly, the suspicion of pseudo-thrombocytopenia must always exist within an absence of the patient's clinic.

Keywords: Thrombocytopenias, of pseudo-thrombocytopenia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	4
1.1 TROMBOCITOPENIAS.....	4
1.2 MÉTODOS LABORATORIAIS DE CONTAGEM PLAQUETÁRIA.....	5
2 OBJETIVO	5
3 JUSTIFICATIVA	6
4 MATERIAIS E MÉTODOS	6
5 RELATO DE CASO	6
5.1 ANÁLISE DA AMOSTRA.....	7
6 DESENVOLVIMENTO E DISCUSSÃO	8
7 CONCLUSÃO	10
REFERÊNCIAS	11

1 INTRODUÇÃO

As plaquetas, também chamadas de trombócitos, são células pequenas e de estrutura bastante complexas, embora incompleta por não apresentarem material nuclear. Seu tamanho é cerca de 3 a 4 μ e apresentam cerca de 1 μ de espessura. São originadas do citoplasma da maior célula observada na medula óssea que são os megacariócitos (LORENZI, 2003).

Essas pequenas células têm função importante na hemostasia primária, uma vez que, formam o tampão mecânico frente à lesão vascular. A ausência de plaquetas leva ao vazamento espontâneo de sangue pelos pequenos vasos (HOFFBRAND, 2004).

1.1 TROMBOCITOPENIAS

Existem inúmeras causas de trombocitopenias e elas cursam com púrpuras cutâneas, sangramentos espontâneos de mucosas, hemorragia prolongada após traumatismos. Dentre as causas desta diminuição do número de plaquetas tem-se a insuficiente produção dessas células (defeitos congênitos que levam a depressão dos megacariócitos, síndromes mielodisplásicas, anemia megaloblástica, mieloma múltiplo, infecção por HIV, esplenomegalia, dentre outras), e ainda uma queda do número de células resultante de intoxicação por drogas (ex: clorafenicol, analgésicos, sedativos, antiinflamatórios, diuréticos, antidiabéticos e outros) (HOFFBRAND, 2004).

Devido aos problemas resultantes das trombocitopenias se faz necessário um monitoramento dos pacientes que apresentam este problema evitando-se que eles chegam a ter sangramentos significativos. O paciente deverá ter a contagem de plaquetas constantemente avaliada laboratorialmente (LORENZI, 2003).

1.2 MÉTODOS LABORATORIAIS DE CONTAGEM PLAQUETÁRIAS

O método manual e clássico para contagem das plaquetas consistia na observação microscópica por contraste de fase (contagem em câmara de Neubauer) que constitui ainda o método de referência. Porém este teste depende de uma sensível qualidade visual e está sujeito a erros subjetivos. (England 1990; Brecher, Schneiderman & Cronkite 1953).

A precisão se torna maior em contadores automáticos. Eles utilizam sistemas ópticos e/ou de variação de impedância que muitas vezes minimizam o fator de erro. Geralmente eles são capazes de avaliar variações de forma e tamanho das plaquetas e detectam a presença de

agregação plaquetária que são alterações importantes em determinadas patologias. No entanto, em outras situações onde temos plaquetas gigantes os contadores automatizados não conseguem distingui-las de eritrócitos pequenos, fragmentos de leucócitos ou outras estruturas de tamanho e forma similar (England 1990; Brecher, Schneiderman & Cronkite 1953).

Segundo TASKER; CRIPPS; MACKIN (2001, Moroz. et al. Apud, 2007), a avaliação microscópica do esfregaço sangüíneo é uma rápida estimativa do número de plaquetas obtida pela média contada por campo visualizado em aumento de 1000 x (TASKER; CRIPPS; MACKIN, 2001, apud MOROZ. et al., 2007).

2 OBJETIVO

Esse trabalho tem como objetivo principal mostrar a importância da confiabilidade de um resultado de exame laboratorial para tomada de decisão médica que se refletirá na conduta do tratamento de seu paciente. Visa ainda mostrar que existem falhas na metodologia dos aparelhos automatizados e que a microscopia óptica ainda é insubstituível.

Será apresentado um relato de caso que permitirá observar como se faz necessário uma análise microscópica bem realizada e, a liberação correta dos achados no esfregaço sangüíneo de um paciente, a fim de evitar, procedimentos incorretos no seu diagnóstico e/ou tratamento.

3 JUSTIFICATIVA

A contagem correta de plaquetas é de extrema importância para o médico prosseguir sua investigação para o diagnóstico do paciente, bem como, para o monitoramento da sua patologia. A apresentação deste caso ilustra como a contagem incorreta das plaquetas, induz ao médico realizar procedimentos que seriam indispensáveis.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho apresenta um relato de caso e é baseado em uma pesquisa bibliográfica relacionado a dados de outros autores.

A trajetória percorrida para desenvolver este trabalho ocorreu da seguinte forma:

- Inicialmente foi selecionado o caso a ser relatado;
- Busca de artigos científicos em bases de dados especializadas e de livros;
- Elaboração da introdução do trabalho após leitura minuciosa do tema, com o intuito de absorver dos livros e artigos as proposições dos autores a respeito do assunto.

5 RELATO DE CASO

Paciente GSP do sexo feminino, de 23 anos de idade chegou ao laboratório DIU-Saúde de Uberlândia localizada na Avenida Getúlio Vargas nº184. A paciente apresentou um pedido médico com a solicitação de um mielograma. A coleta foi realizada pelo médico responsável. Embora seja um exame invasivo foi obtido com sucesso. A coleta não apresentou maiores dificuldades.

Durante o procedimento o médico indagou a paciente qual era a indicação do exame. A mesma relatou que em exames anteriores realizado em outro laboratório ela apresentou uma contagem de plaquetas muito baixa com um valor de aproximadamente 20.000/ml. O hemograma foi repetido 3 vezes e a contagem foi baixa em todos. Isso levou ao médico solicitar o mielograma para a busca da causa desta trombocitopenia significativa.

Juntamente com o mielograma foi coletada uma amostra de sangue com EDTA. Este é um procedimento frequentemente realizado para enviar ao laboratório de apoio o resultado do hemograma juntamente com o mielograma.

5.2 ANÁLISE DA AMOSTRA

Apenas a amostra com EDTA é analisada no laboratório Saúde e o resultado é encaminhado juntamente com as lâminas do mielograma para o laboratório de apoio (Hermis Pardini).

A amostra foi bem homogeneizada e colocada no aparelho automatizado COULTER-STKS. O aparelho demonstrou um resultado normal da série vermelha e branca e uma contagem extremamente baixa de plaquetas. No entanto, o aparelho refletiu um flag (alarme) que indicava agregação plaquetária. Como de rotina em baixas contagens de plaquetas alertado ao flag do aparelho foi confeccionada a lâmina da amostra da paciente. Na análise da lâmina observaram-se inúmeras agregações plaquetárias. As figura 01 e 02 mostram os agregados plaquetários encontrados no esfregaço sangüíneo da paciente.

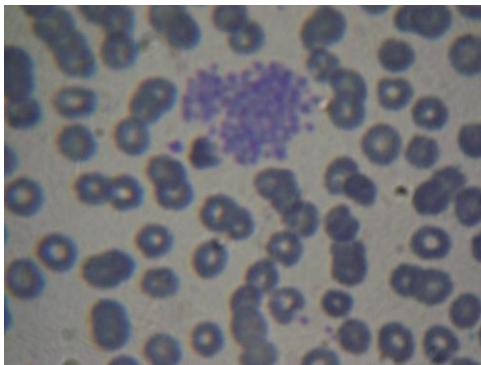


Figura 01- Agregação plaquetária

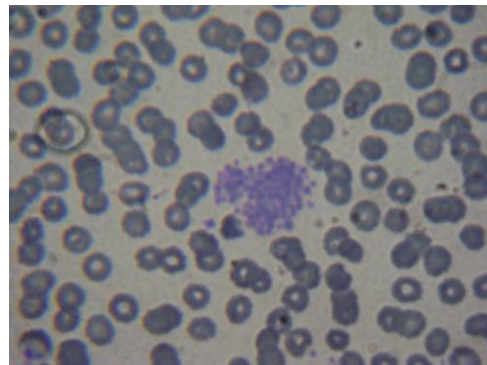


Figura 02 – Agregação plaquetária

O hemograma foi enviado ao laboratório de apoio juntamente com as lâminas do mielograma. O mielograma como se esperava apresentou um resultado normal e a agregação plaquetária foi confirmada no hemograma emitido por eles. O exame de fator anti-nuclear também foi realizado no laboratório de apoio e o resultado obtido foi dentro da normalidade descartando-se, portanto, uma possível diminuição plaquetária por destruição..

6 DESENVOLVIMENTO E DISCUSSÃO

A agregação plaquetária é resultante de uma sensibilidade ao anticoagulante que resultará numa pseudotrombocitopenia, sendo o sateletismo plaquetário, coagulação parcial da amostra, presença de plaquetas gigantes, outras possíveis causas.

A natureza fisiopatológica da pseudotrombocitopenia induzida pelo EDTA é, ainda, incerta. No entanto, tem sido proposto que auto-anticorpos presentes no plasma reconhecem e se ligam a um epítipo da glicoproteína IIb (GPIIb), integrante do complexo GPIIb/IIIa da superfície plaquetária, promovendo a aglutinação das plaquetas. Esse epítipo somente é exposto na presença de EDTA. A fisiopatologia da produção de tais anticorpos é desconhecida e a presença desses no plasma é flutuante, podendo alternar períodos em que se detecta ou não uma pseudotrombocitopenia (DUCE et al., 2004).

As pseudotrombocitopenias representam aproximadamente 49% das trombocitopenias que são analisadas em contadores automatizados sendo que 72% é devido a agregação plaquetária no uso do EDTA (etilenedinitrilotetraacetato) (MORALES et al., 2001).

No presente caso, a paciente realizou exames anteriores e foi relatada apenas uma trombocitopenia. O fato de não apontar a presença de agregação plaquetária induziu ao médico uma pesquisa mais aprofundada para se chegar a um diagnóstico a respeito deste número diminuído da contagem de plaquetas, mesmo na ausência de clínica. O mielograma é um exame de escolha nesses casos, para observar se a causa pode ser, portanto, de origem medular.

Segundo DUSSE et al. (2004) alguns pesquisadores afirmam que esta aglutinação *in vitro* ocorre apenas na presença do EDTA. Desta forma os outros anticoagulantes mostrariam uma contagem correta de plaquetas. Porém, outros autores afirmam que os demais anticoagulantes como citrato de sódio, heparina e oxalato de sódio também seriam responsáveis por provocar a aglutinação, e a contagem correta só poderia ser estimada na ausência de anticoagulantes.

Para uma confirmação deste estudo a paciente foi solicitada a comparecer no laboratório para fazer nova coleta de amostra em tubo com o EDTA e o citrato de sódio. As

duas amostras foram processadas no aparelho automatizado COULTER-STKS e os resultados encontrados estão expressos na tabela 01.

Contagem de Plaquetas no COULTER-STKS:

Anticoagulante	Contagem de plaquetas
<i>Anticoagulante: EDTA</i>	14.000
<i>Anticoagulante: Citrato de sódio</i>	203.000

Tabela 01: Contagem de plaquetas em sangue citratado e com EDTA

Foi possível observar que a paciente apresentou uma contagem plaquetária normal na amostra coletada com o citrato de sódio. O aparelho novamente alertou a presença de agregação plaquetária na amostra com EDTA e houve confirmação em lâmina.

Outras tentativas estão sendo realizadas a fim de se evitar esta pseudoplaquetopenia. DUSSE et al. (2004) diz que “(...)a suplementação do EDTA com kanamicina evitou a aglutinação plaquetária. A combinação de citrato de sódio e paraformaldeído também serviu como forma de prevenção.

7 CONCLUSÃO

Os resultados emitidos pelos laboratórios e apresentados ao médico devem ser extremamente confiáveis, uma vez que, baseado neles, novas condutas e tratamentos serão indicados ao paciente.

A paciente descrita neste caso apresentou uma trombocitopenia que provavelmente não foi confirmada em lâmina. Isso conduziu o médico a solicitar um mielograma. No entanto, este é um exame invasivo e doloroso que certamente causa danos físicos e psicológicos no indivíduo.

Os aparelhos automatizados de hematologia, mesmo que a cada dia se apresente mais aprimorados, dispondo de uma maior precisão, são providos de limitações. Limitações estas, que podem ser facilmente distinguidas através da microscopia óptica.

REFERÊNCIAS

DUSSE, Luci Maria Sant'Ana, VIEIRA, Lauro Mello and CARVALHO, Maria das Graças. **Pseudotrombocitopenia**. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, Oct. 2004, vol.40, no.5, p.321-324. ISSN 1676-2444. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-24442004000500007&script=sci_arttext&tlng=en>. Acesso em 05 jun.2008.

England JM, Verwillghern RL: Recommended methods for the visual determination of white cells and platelet counts.WHO, LAB 1988, 88.3:1.

HOFFBRAND, A.Victor; PETTIT, John E.; MOSS, P.A.H. **Fundamentos em Hematologia**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 91 p.

LORENZI, Therezinha F. **Manual de Hematologia**. 3ª ed.SP: Guanabara Koogan, 2003.

MORALES, M. et al. Pseudotrombocitopenia Edta-Dependiente: Rol Del Laboratorio Clínico En La Detección Y El Correcto Contaje Plaquetario. **Revista de la Facultad de Medicina**. Caracas, Venezuela, v. 24 n.1, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S07984692001000100008&script=sci_arttext&tlng=es>. Acesso em 30 mai.2008.

MOROZ, Ludmila Rodrigues. et al. Correlação entre o hemocítômetro e outras técnicas de rotina para a contagem do número de plaquetas em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (H.V.-UEL). **Ciências Agrárias**. Londrina, Brasil, v. 28, n. 4, p. 659-664, out./dez. 2007. Disponível em:<http://www.uel.br/proppg/semina/pdf/semina_28_4_19_14.pdf>. Acesso em 31 mai.2008.