

ESTUDO DE MÉTODOS PARA CONTAGEM DIFERENCIAL DE LEUCÓCITOS EM FELINOS

PATRÍCIA ELOISA MUNZLINGER^{1,2*}, RAFAELA NOGUEIRA DA COSTA³,
LARA MARIA COSTA DA SILVA⁴, FERNANDA BERNARDO CRIPA⁵, LUCIANA
PEREIRA MACHADO^{2,6}.

1 Introdução

A automação do hemograma possibilita maior produtividade e rapidez na análise da amostra, sendo muito utilizada em laboratórios especializados (Lauzin, 2017). O analisador automático ProCyte DX utiliza fluorescência óptica, citometria de fluxo a laser e impedância de fluxo laminar, para quantificar e diferenciar neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos, apresentando resultados em valores relativos e absolutos, além de gerar gráficos de dispersão e *SmartFlags*, mas não realiza a contagem de neutrófilos bastonetes, sendo necessária a conferência do esfregaço sanguíneo por microscopia óptica diante de limitações (IDEXX, 2021).

Em gatos hígidos, a população de leucócitos é composta principalmente por neutrófilos segmentados e em menor quantidade por linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos estão presentes de forma menos significativa (Valenciano; Decker; Cowell, 2010). A avaliação microscópica do esfregaço sanguíneo constitui um importante complemento ao hemograma automatizado, fornecendo uma garantia da acurácia dos valores obtidos por outros métodos, e permitindo identificar alterações morfológicas nas células sanguíneas (Walker, 2009).

2 Objetivos

Comparar dois métodos de contagem diferencial de leucócitos em felinos.

3 Metodologia

Foram analisadas 98 amostras de sangue de gatos independente do sexo, idade, peso e

1 Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, contato: patricia.munzlinger@estudante.uffs.edu.br. **Bolsista FA/PIBIC.**

2 Grupo de Pesquisa: Saúde, Produção e Reprodução Animal - GPqPRA

3 Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza.

4 Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza.

5 Mestre, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza.

6 Professora associada, Doutora, Médica Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, **Orientadora.**

raça, coletadas em tubos com EDTA (Vacuette K2 EDTA) entre janeiro de 2024 e junho de 2026, cujos leucogramas foram obtidos por meio do analisador automático ProCyte Dx (IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine, EUA), com conferência em lâmina. Os esfregaços sanguíneos foram fixados em metanol e corados com Panótico Rápido (RenyLab), para a contagem diferencial foram analisados 100 leucócitos em microscopia óptica (Olympus CX33, aumento de 1000x), permitindo calcular o número absoluto de cada série leucocitária (Barger et al., 2015; Thrall et al., 2007).

Os resultados das contagens manuais e do analisador automático foram tabuladas em planilha do Google Sheets e divididos em 4 grupos considerando o histórico clínico e a contagem total de leucócitos, 1 grupo para Hígidos com leucócitos totais dentro do valor de referência (LT normal, n=13) e 3 grupos para animais Doentes: LT normal (n=36), Leucocitose (n=25) e Leucopênico (n=8). Os grupos Doentes foram ainda reavaliados excluindo-se os animais com desvio à esquerda (presença de neutrófilos jovens acima do valor de referência).

O programa SigmaStat 3.1 foi utilizado para realizar a análise estatística. Para a comparação dos métodos, quando os dados apresentaram distribuição normal, utilizou-se o teste t-pareado, e para dados não paramétricos o teste de Wilcoxon. Também foi realizado o teste de correlação de Spearman. Todos com nível de significância de 5%.

4 Resultados e Discussão

Os métodos de contagem apresentaram divergências que podem ser percebidas em todos os grupos para alguns tipos celulares, enquanto para outros tipos celulares houve concordância (Tabela 1).

A contagem de eosinófilos não apresentou diferença entre os métodos automatizado e por microscopia em nenhum dos grupos avaliados. Já a contagem de monócitos apresentou diferença entre os métodos em todos os grupos avaliados. A contagem de neutrófilos diferiu entre a maioria dos grupos, exceto para Leucopênicos. A contagem de linfócitos apresentou diferença no grupo dos Leucocitose Doentes LT normal, mas não diferiu nos grupos Leucopênico e Hígidos LT normal. A contagem de basófilos foi diferente nos grupos Leucopênico e Doentes LT normal, mas não mostrou diferença nos grupos Leucocitose e Hígidos LT normal.

Nos animais Hígidos a diferença entre métodos na contagem de neutrófilos e monócitos não apresenta relevância clínica, visto que para ambos os grupos os valores destas células se mantiveram dentro do intervalo de referência para a espécie (Thrall et al., 2007).

Uma segunda análise foi realizada excluindo dos grupos doentes os animais com desvio à esquerda. Assim, no grupo Leucopênico sem desvio à esquerda (N=6). A contagem de monócitos e basófilos passou de diferente para sem diferença ($p=0,076$), enquanto neutrófilos, eosinófilos e linfócitos, continuaram sem diferença. No grupo Leucocitose sem desvio à esquerda (N=12), 3 tipos celulares passaram de diferentes para sem diferença: os neutrófilos ($p=0,059$), linfócitos ($p=0,064$) e monócitos ($p=0,084$), enquanto eosinófilos e basófilos permaneceram diferentes. Para o grupo Doentes LT normal a remoção dos animais sem desvio à esquerda (N=36), não modificou a interpretação estatística.

Tabela 1- Média±Desvio Padrão ou Mediana (Percentil 25; Percentil 75) do leucograma de 95 gatos, divididos em 4 grupos segundo a contagem total de leucócitos (LT) e submetidos a duas técnicas de contagem diferencial de leucócitos (ProCyte DX e Microscopia óptica)

Grupos	Hígidos	Doentes		
	Normal n=13	Normal n=52	Leucocitose n=25	Leucopênico n=8
LT	9.786±2.044,7	11.897±3669	30.894±9.454	3.782±1.167
Neutrófilos segmentados				
ProCyte	5.294±1.627	7.520 (4685; 9.430)	17.760(11.800; 27.920)	1.686±792
Microscopia	5.692±2.025	7.655 (5.049; 10.339)	19.647(14.656; 29.028)	1.726±868
<i>p</i>	0,027	<0,001*	0,002*	0,460
Eosinófilos				
ProCyte	705±397	385 (205; 925)	250 (77; 645)	290±184
Microscopia	673±422	455 (183; 806)	314 (154; 1.090)	364±226
<i>p</i>	0,584	0,601*	0,139*	0,246*
Basófilos				
ProCyte	114±89	75 (30; 120)	55 (30; 145)	30 (30; 117)
Microscopia	83±95	0 (0; 71)	0,0 (0; 211)	0 (0; 0)
<i>p</i>	0,270	<0,001*	0,475*	0,016*
Linfócitos				
ProCyte	3.318±1.227	2.985 (2.070; 4.300)	6.270 (3.507; 10.947)	1.110 (825; 1.775)
Microscopia	3.105±1.116	2.682 (1.328; 3.851)	4.196 (1.681; 6.834)	1.434 (940; 1.896)
<i>p</i>	0,100	<0,001*	0,015*	1,000*
Monócitos				
ProCyte	361±238	325 (230; 600)	1.110 (540; 1.892)	145 (90; 266)
Microscopia	233±160	213 (146; 463)	815 (453; 1.256)	94 (36; 135)
<i>p</i>	0,034	<0,001*	0,012*	0,016*

LT: Leucócitos totais (células/uL); *p*: valor de *p* do teste t-pareado e * para o teste de Wilcoxon.

A correlação para a contagem de neutrófilos foi positiva e significativa em todos os grupos, com forte associação nos grupos Leucopênico ($r=1,0$); Hígidos LT normal ($r=0,956$); Doentes LT normal ($r=0,984$) e Leucocitose ($r=0,906$). Os eosinófilos, também exibiram correlações positivas e significativas, variando de boa a moderada nos grupos Leucocitose ($r=0,830$), Doentes LT normal ($r=0,802$), Leucopênico ($r=0,790$) e Hígidos LT normal ($r=0,674$).

Os basófilos apresentaram menores correlações, sendo não significativa para os grupos Leucopênico e Hígidos LT normal, e fraco para Leucocitose ($r=0,483$) e Doentes LT normal ($r=0,469$). Para os linfócitos, houve correlação moderada para Leucocitose ($r=0,739$) e Doentes LT normal ($r=0,793$), e boa para os Hígidos LT normal ($r=0,907$). Já para o grupo dos Leucopênicos não houve correlação. Para a contagem de monócitos, a correlação foi moderada apenas para os grupos Leucocitose ($r=0,692$) e Doentes LT normal ($r=0,638$), enquanto foi não significativa para os grupos Leucopênico e Hígidos LT normal.

Ainda, ao correlacionar as contagens com e sem desvio à esquerda, nos Leucopênicos sem desvio, os neutrófilos continuaram com correlação excelente ($r=1,000$) e nos eosinófilos aumentou para excelente ($r=1,000$). Nos linfócitos e monócitos a correlação foi de não significativa à excelente ($r=1,000$) e para os basófilos permaneceu não significativa. No grupo das Leucocitose sem desvio, nos neutrófilos aumentou para excelente ($r=0,993$), nos eosinófilos continuou boa ($r=0,879$) e nos basófilos foi de fraca à moderada ($r=0,762$). A correlação de linfócitos aumentou de moderada para boa ($r=0,909$) e a de monócitos permaneceu moderada ($r=0,740$).

Por fim, no grupo Doentes LT normal sem desvio à esquerda, a correlação para neutrófilos se manteve excelente ($r=0,981$) e para eosinófilos diminuiu de boa para moderada ($r=0,771$), assim como nos monócitos, que teve redução de moderada à fraca ($r=0,583$). Nos basófilos a correlação permaneceu fraca ($r=0,494$) e nos linfócitos foi de moderada à boa ($r=0,927$).

Portanto, não houve diferença significativa entre os métodos para eosinófilos nos grupos avaliados. Os neutrófilos apresentaram correlação positiva de boa à excelente. Para os monócitos, houve diferença significativa em todos os grupos, com melhora da correlação apenas no grupo Leucopênico. Os linfócitos apresentaram aumento da correlação após a retirada dos animais com desvio à esquerda, enquanto os basófilos apresentaram aumento apenas no grupo de leucocitose. Para os Doentes LT normal a comparação não apresentou alterações, mas a correlação entre eosinófilos e monócitos diminuiu nos sem desvio.

Portanto, observa-se que as principais discordâncias entre os métodos são em monócitos e basófilos para a maioria dos grupos. Nos eosinófilos, apesar dos grânulos citoplasmáticos pequenos, de tamanho uniforme e formato de bastonete, foi possível identificá-los na mesma proporção em ambos os métodos (Valenciano; Decker; Cowell, 2010).

5 Conclusão

Para felinos hígidos, as contagens se correlacionam nos leucócitos mais frequentes para a espécie, sendo possível que o analisador automático tenha maior habilidade para identificação de basófilos e monócitos que a contagem manual. O método automatizado pode ser utilizado para a realização do leucograma em gatos, entretanto, é importante a conferência em lâmina principalmente diante da possibilidade de presença de neutrófilos bastonetes. É importante que as particularidades de ambos os métodos sejam consideradas e a microscopia seja utilizada para confirmar os resultados dos analisadores automatizados, além de avaliar a morfologia celular.

Referências Bibliográficas

BARGER, A.M.; MACNEILL, A.L. **Clinical pathology and laboratory techniques: for veterinary technicians**. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2015. p. 1-17.

LAUZIN, D. D. B. **Avaliação da acurácia e confiabilidade de dois analisadores hematológicos automatizados**. Rio de Janeiro, 2017. 67 f.; il. Dissertação –Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

THRALL, M. A, *et. al.* **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2007. p 21-304. ISBN 978-85-277-182659-7.

VALENCIANO, A. C.; DECKER, L. S.; COWELL, R. L. Interpretation of feline leukocyte responses. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (ed.). **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010. p. 335–344.

WALKER, D. Esfregaços de sangue periférico. In: COWELL, R. L. *et al.* **Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos**. 3. ed. Barueri: Manole, 2009. p. 390–421.

Palavras-chave: Analisador automático; Leucograma; ProCyte DX; hemograma.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2025-0499

Financiamento

