

Análise comparativa da contagem de reticulócitos em lâminas coradas com Azul de Cresil Brillhante e contra corados com Kit Colorgram

Comparative analysis of reticulocyte counting on slides stained with Cresyl Brilliant Blue and those stained also with Colorgram Kit

Ana Júlia de Siqueira Barros

Resumo: Reticulócitos são células precursoras dos eritrócitos, com grande importância clínica principalmente em casos de anemia. A contagem em microscopia óptica pode ser realizada apenas com a coloração de Azul de Cresil Brillhante (realizada antes da confecção do esfregaço) ou com a lâmina contra corada com corante hematológico de rotina (coloração realizada após a confecção do esfregaço). Todo material biológico sofre degeneração devido ao tempo e para essa análise foi utilizado o Erro Total. As amostras utilizadas tinham resultado normais e alterados, possibilitando ampliar o estudo. Os dados não tiveram alta disparidade, evidenciando que não houve degeneração nem variação com significado clínico.

Palavras-chave: Reticulócitos; Contagem; Degeneração.

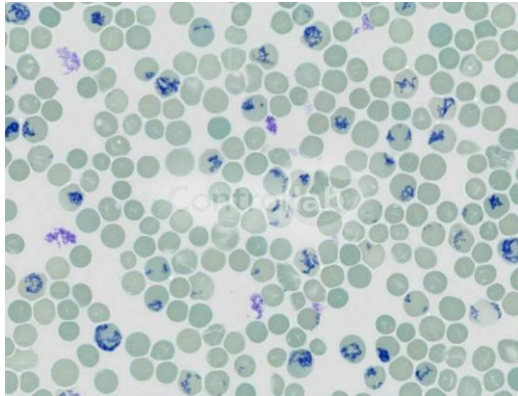
INTRODUÇÃO

Reticulócitos são células antecessoras aos eritrócitos na eritropoiese, apesar de terem perdido o núcleo, ainda possuem resquícios de ácido ribonucleico ribossômico (RNAr), sendo a última fase em que há produção de hemoglobina. Eles podem ser vistos na microscopia óptica apenas com o uso de corantes com pH básico, como o Azul de Cresil Brillhante, pois evidenciam o RNAr presente no citoplasma dessas células.^{1,2}

Essa coloração é chamada supravital, pois as células ainda estão vivas quando expostas ao corante, permitindo a visualização dos retículos como grânulos da cor púrpura-azulados. Quanto mais imaturo for o reticulócito, mais grânulos ele terá. É recomendado contar as células que possuem no mínimo duas partículas coradas.³

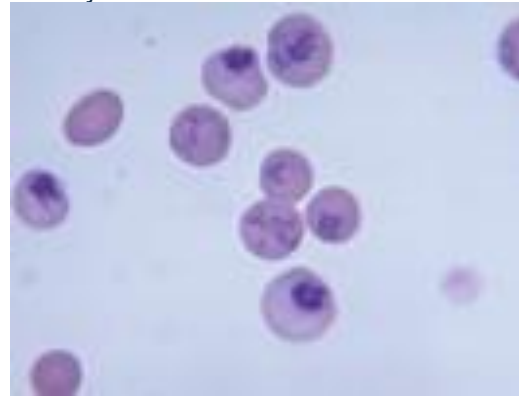
A análise quantitativa de reticulócitos é importante para avaliação da atividade da medula óssea, utilizada principalmente em processos anêmicos. Geralmente, quando há reticulopenia, significa que a anemia causa hipoplasia medular, ou seja, diminuição de glóbulos vermelhos; quando há reticulocitose, a medula não foi afetada pois aumenta a produção dessas células para suprir a necessidade do organismo.⁴

Figura 1- Reticulócitos corados apenas com Azul de Cresil



Fonte: <https://controllab.com/programa/reticulocitos/>

Figura 2 - Reticulócitos com contra coloração



Fonte: <https://labplasma.wordpress.com/reticulocitos/>

Em qualquer experimento que utilize amostras biológicas, existe um coeficiente de variação biológica que pode ser considerado aceitável. Um dos mais utilizados é o Erro Total, que consiste na soma do erro aleatório (imprecisão metodológica) e erro sistemático (diferença entre os resultados e o valor verdadeiro do analito).⁵

OBJETIVO

Comparar a contagem de reticulócitos em lâminas coradas somente com Azul de Cresil Brilhante e contra coradas com kit Colorgram por cinco dias consecutivos para avaliar se havia degeneração (por meio do coeficiente de variação biológica) e se haveria impacto clínico.

MATERIAL E MÉTODO

Os materiais utilizados foram cedidos por laboratório privado, sendo amostras de sangue colhidas em tubos com anticoagulante EDTA, corante Azul de Cresil Brilhante e kit de coloração hematológica Colorgram. As amostras foram preparadas com 150µl de Azul de Cresil adicionando volume de sangue de 300µl, 450µl ou 600µl de acordo com o hematócrito (quanto maior, mais sangue é necessário) e incubadas à 37°C antes da confecção do esfregaço. Para cada amostra foram confeccionadas duas lâminas, apenas uma foi contra corada com o kit Colorgram e ambas seguiram para a microscopia. Foram contados os reticulócitos de dez campos de cada lâmina realizando a média para chegar ao resultado. A análise microscópica foi realizada durante 5 dias. Para as análises foram utilizados o programa Excel e o coeficiente de variação biológica Erro Total de Westgard.

RESULTADO

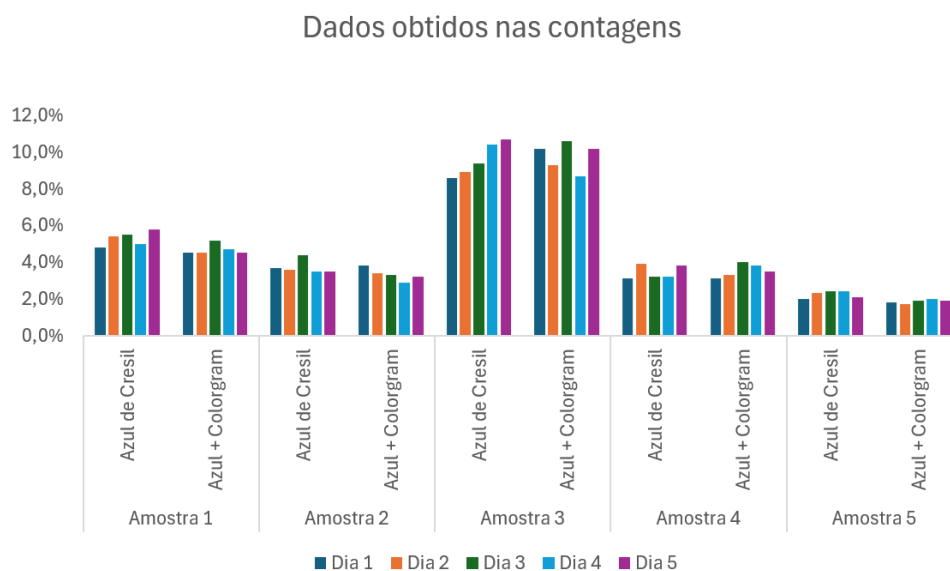
A tabela 1 destaca os resultados obtidos a partir de cinco amostras, com as duas colorações, contadas ao longo de cinco dias consecutivos, sendo o “Dia 1” aquele em que as lâminas foram preparadas. Em termos numéricos, os dados apresentam pouca variação e, ao serem representados graficamente, essa constatação se torna ainda mais clara.

Tabela 1 - Contagem de reticulócitos

	Coloração	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
Amostra 1	Azul de Cresil	4,8%	5,4%	5,5%	5,0%	5,8%
	Azul + Colorgram	4,5%	4,5%	5,2%	4,7%	4,5%
Amostra 2	Azul de Cresil	3,7%	3,6%	4,4%	3,5%	3,5%
	Azul + Colorgram	3,8%	3,4%	3,3%	2,9%	3,2%
Amostra 3	Azul de Cresil	8,6%	8,9%	9,4%	10,4%	10,7%
	Azul + Colorgram	10,2%	9,3%	10,6%	8,7%	10,2%
Amostra 4	Azul de Cresil	3,1%	3,9%	3,2%	3,2%	3,8%
	Azul + Colorgram	3,1%	3,3%	4,0%	3,8%	3,5%
Amostra 5	Azul de Cresil	2,0%	2,3%	2,4%	2,4%	2,1%
	Azul + Colorgram	1,8%	1,7%	1,9%	2,0%	1,9%

Fonte: Autoria própria

Figura 3 - Gráfico com os dados obtidos



Fonte: Autoria própria

Contudo, ao analisar pelo coeficiente de variação biológica Erro Total (que para reticulócitos é de 16,8%⁵), percebemos que no terceiro dia, quatro das dez leituras realizadas obtiveram variação acima da ideal quando comparadas ao Dia 1. Entretanto, o resultado dessas mesmas lâminas atingiu o Erro Total nos dias seguintes, possibilitando ser algum erro de contagem nesse dia específico.

Ao examinar o desvio padrão (DP), percebe-se que apenas a amostra 3 (que possui o resultado mais alterado clinicamente) se aproxima de 1%, que não interfere no diagnóstico ou tratamento; as outras não atingiram DP de 0,5%.

CONCLUSÃO

Embora algumas análises não atingiram o coeficiente de variação biológica, não houve degeneração celular com significado clínico no decorrer dos dias de análise e nem variação relevante entre as duas colorações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Figueredo, MS; Kerbauy, J; Lourenço, DM. Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar da UNIFESP-EPM Hematologia. Manole, 2010.
2. Hoffbrand, AV; Moss, PAH. Fundamentos em Hematologia. Artmed, Porto Alegre, 2018
3. Bain, BJ. Células Sanguíneas: um guia prático. Artmed, Porto Alegre, 2016.
4. Naoum, FA. Doenças que alteram os exames hematológicos. Atheneu, Rio de Janeiro, 2021
5. Basques, JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest, 2009