

---

**Academia de Ciência e Tecnologia**

**ALEXANDRE BATISTA DE OLIVEIRA**

**NOVOS PARÂMETROS DO HEMOGRAMA AUTOMATIZADO**

---

**Catanduva, SP  
2018**

## **Resumo**

As informações fornecidas pelo hemograma são de fundamental importância dentro da investigação das doenças hematológicas. Os contadores automatizados constantemente têm incorporado novas tecnologias que permitem uma análise mais detalhada das células. Para determinação do hemograma existem diferentes tipos de contadores globulares automáticos, que diferem no sistema de contagem celular e na sua capacidade de avaliação de diferentes parâmetros hematológicos. Os contadores apresentam como principais metodologias o método óptico e o de impedância. Como contadores de referência para análise dos diferentes parâmetros reportáveis foram escolhidos as marcas Sysmex, o Advia, Coulter, Bayer, Abbott e Horiba. Os contadores automáticos estão cada vez mais evoluídos tecnologicamente, com capacidade para avaliar um número crescente parâmetros que são de grande importância no auxílio ao diagnóstico e monitorização da terapêutica.

## **Abstract**

The information provided by the hemogram is of fundamental importance in the investigation of hematological diseases. Automated counters are constantly incorporating new technologies that allow for a more detailed analysis of the cells. To determine the hemogram, there are different types of automatic globular counters, which differ in the cell counting system and in its ability to evaluate different hematological parameters. The counters present as main methodologies the optical method and the impedance method. As reference counters for analysis of the different reportable parameters, the brands Sysmex, Advia, Coulter, Bayer, Abbott and Horiba were chosen. Automatic counters are increasingly evolving technologically, with the ability to assess a growing number of parameters that are of great importance in aiding the diagnosis and monitoring of therapy.

## Introdução

A diversidade de informações que o hemograma pode fornecer, embora em geral bastante inespecíficas, torna esse exame subsidiário um dos mais solicitados nas práticas clínica e cirúrgica. As informações fornecidas pela análise do sangue periférico pretendem responder a duas questões básicas: a medula óssea está produzindo um número suficiente de células maduras de diferentes linhagens? Os processos de proliferação, diferenciação e aquisição de funções de cada tipo celular estão se desenvolvendo de maneira adequada em todas as linhagens celulares? Essas perguntas podem ser respondidas pelos parâmetros numéricos fornecidos pelos sistemas hematológicos automatizados e pelo exame morfológico das células à microscopia óptica. Assim, a somatória da análise de: aspectos quantitativos + aspectos morfológicos + conhecimento fisiopatológico dos distúrbios da hematopoiese será de grande auxílio diagnóstico em diversas condições clínicas, servindo de importante subsídio para a observação da medula óssea, podendo ser indicativas de diversos distúrbios medulares.

Durante as últimas décadas observou-se uma grande evolução tecnológica na realização do hemograma, e as técnicas manuais têm sido substituídas por sistemas automatizados que apresentam maior precisão nos resultados e em um menor intervalo de tempo. De um lado temos as empresas investindo em tecnologia e lançando continuamente no mercado uma série de novos parâmetros e índices no hemograma; e de outro lado o despreparo do requisitante do exame no reconhecimento desses novos indicadores, aliado à falta de visão crítica sobre as reais vantagens ou limitações dos mesmos.

Para determinação do hemograma existem diferentes tipos de contadores globulares automáticos, que diferem no sistema de contagem celular e na sua capacidade de avaliação de diferentes parâmetros hematológicos. Há, no entanto, parâmetros que definem o hemograma e que qualquer contador hematológico automático avalia. Assim, um hemograma engloba a avaliação eritrocitária, em que se inclui a contagem de eritrócitos (RBC), determinação da concentração de hemoglobina (Hb), hematócrito (HCT) e índices eritrocitários - volume corpuscular médio (MCV), hemoglobina corpuscular média (MHC), concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC), “red cell distribution width” (RDW) e “hemoglobin distribution width” (HDW); inclui ainda a avaliação dos leucócitos (WBC), fazendo-se a contagem total e a contagem diferencial, ou seja, estabelecendo o valor relativo e absoluto dos vários tipos de leucócitos. Um estudo hematológico básico inclui ainda a avaliação plaquetária, a contagem de plaquetas (PLT), avaliação do plaquetócrito (PCT) e a determinação dos índices plaquetários, como o volume plaquetário médio (MPV) e “platelet distribution width” (PDW). Alguns contadores permitem avaliar também o valor de

reticulócitos (RET) e de eritroblastos (NRBC) importantes no estudo hematológico.

A avaliação do hemograma, utilizando os contadores globulares automáticos, é feita com um pequeno volume de sangue total colhido para um tubo com anticoagulante, preferencialmente o EDTA (ácido etilenodiamino tetra acético). A amostra deve estar perfeitamente homogeneizada e sem coágulos e deve ser processada até 2- 4 horas após a colheita. As amostras “envelhecidas” podem apresentar alterações nas contagens celulares e seus índices. A maioria dos aparelhos contém um sistema de identificação de amostras por leitura ótica de código de barras, um sistema de controlo do estado de processamento das amostras, e uma ligação ao sistema informático do laboratório para envio, análise e validação de resultados. Os aparelhos possuem sistemas gráficos de distribuição de resultados, alertas de processamento relativos ao aparelho e às amostras (por exemplo, alertas para a falha de reagente, entupimento de agulha, etc.). Permitem, ainda, o processamento de amostras quer em modo automático, quer em modo manual (mais usado para análise de amostras isoladamente) e apresentam, ainda, a possibilidade de utilização do modo capilar (em caso de baixo volume de amostra).

Cada aparelho tem as suas limitações, que é importante conhecer. É também importante saber interpretar os alertas produzidos, que auxiliam na identificação de erros ou alertam para alterações nas células sanguíneas, que é necessário confirmar por visualização microscópica do respetivo esfregaço de sangue periférico. Este aspecto é muito importante para a validação e quantificação de alterações morfológicas e para identificação de células precursoras. Com o decorrer do tempo houve uma evolução no sistema de alertas dos equipamentos, com inclusão de alertas para rejeição de amostras, nomeadamente para volume insuficiente e presença de coágulos.

Os contadores automáticos apresentam diversas vantagens, relativamente ao método manual, tais como: 1) Maior segurança, com a análise das amostras em tubo fechado; 2) Maior reprodutibilidade, sem variabilidade inter-observador; 3) Maior precisão, resultante do elevado número de células contadas; 4) Possibilidade de avaliação de parâmetros não incluídos no hemograma, mas muito úteis na avaliação hematológica, com o mesmo volume de sangue; 5) Mais eficiente permitindo a realização de mais de 100 análises por hora.

O método manual continua, no entanto, a ter a sua importância, sendo utilizado em determinadas circunstâncias, nomeadamente quando os resultados das contagens automáticas geram resultados duvidosos e a única forma de os confirmar é pela técnica manual.

Sempre que a contagem global automática forneça resultados ou indique alarmes que o justifiquem, deve ser realizada uma visualização

microscópica do esfregaço de sangue e, se necessário, uma contagem manual das células. O método manual é importante quando o método automático não consegue fornecer com confiança o valor de contagens celulares anormais, que podem surgir em determinadas condições hematológicas (por exemplo nas anemias e trombocitopenias). O método automático tem maior dificuldade na discriminação de múltiplos tipos celulares numa suspensão de células, a não ser que as diferenças do seu tamanho e forma sejam bastante evidentes.

Para a análise do hemograma os contadores automáticos apresentam duas metodologias principais, o método ótico e de impedância.

### **Método ótico – fundamento**

Os aparelhos que fazem a contagem celular pelo método ótico utilizam uma luz laser para análise e contagem das células por citometria de fluxo. Nestes contadores o sangue é aspirado e introduzido num fluxo contínuo, que faz com que as células se alinhem (uma a uma) no centro do fluxo, prevenindo desta forma a geração de pulsos anormais. Um laser semiconductor é emitido para o fluxo de células atravessando-o na perpendicular ( $90^\circ$ ), estando alinhado com um detetor. Existem vários detetores colocados em diferentes posições relativamente ao laser, o detetor “forward-scattered” (FS) colocado num ângulo de  $2-10^\circ$ , o “lateral-scattered” (LS) colocado para uma leitura a  $90^\circ$  e ainda o “lateral fluorescence light” (LFL) também a  $90^\circ$ . A radiação é convertida em pulsos elétricos, permitindo assim obter informação acerca das células. O número de pulsos indica o número de células (contagem ótica) e o ângulo de dispersão de luz fornece informação sobre o tamanho e complexidade das células. O detetor FS capta a radiação dispersa fornecendo informação acerca do tamanho da célula; o detetor LS capta a radiação dispersa num grande ângulo, fornecendo informação acerca da complexidade interna da célula. O LFL, faz a medição da fluorescência emitida pelas células, fornecendo informação quanto ao tamanho do núcleo.

### **Sistema de impedância – fundamento**

O sistema de impedância elétrica aplicado à contagem celular, é também designado por corrente direta e tem como base o princípio de “Coulter”. Esta metodologia tem como base a medição de alterações numa corrente elétrica durante a passagem de partículas, neste caso células sanguíneas (suspensas numa solução salina, isotónica, boa condutora), através de um pequeno orifício situado entre dois eletrodos. Como as células não são condutoras de corrente elétrica, a passagem de cada célula através da abertura causa uma diferença de potencial entre os dois eletrodos. Desta alteração da corrente gera-se um pulso

elétrico proporcional ao volume da célula que lhe deu origem. Esta metodologia é utilizada essencialmente para contagem de RBC e PLT com prévia lise de WBC. As plaquetas e os eritrócitos são distinguidos com base no seu volume celular, uma vez que as plaquetas têm menor volume e que, como tal, originam um pulso de menor amplitude. O número de pulsos gerados indica o número de células. O tamanho/amplitude do pulso representa o volume/tamanho da célula. Os pulsos são analisados e classificados pelo tamanho por um analisador específico. A soma dos impulsos de todas as células num volume específico é avaliada com recurso a um histograma. No caso dos RBC o somatório dos pulsos fornece o valor de hematócrito e no caso das PLT, o valor do plaquetócrito.

### **Tipos de contador e tecnologia utilizada**

Os mais recentes contadores de células sanguíneas totalmente automatizados aspiram e diluem uma amostra de sangue e determinam de 8 a 46 parâmetros relacionados com os eritrócitos, os leucócitos e as plaquetas.

Muitos identificam a amostra (p.ex. pela leitura do código de barra), homogeneizam e transportam a amostra para a agulha aspiradora, que em geral perfura a tampa, verificando se o volume foi adequado e se não há coágulos. Alguns são conectados a uma máquina automática de distender e corar lâminas.

Os eritrócitos, os leucócitos e as plaquetas podem ser contados e medidos por impedância elétrica ou por dispersão de luz. Com exceção da dosagem da Hb, todos os parâmetros dependem de contagem e de medida de partículas. Os instrumentos automatizados possuem pelo menos dois canais. Em um deles é adicionado um diluente e são contados e medidos os eritrócitos e as plaquetas. No outro, é adicionado um agente lítico com o diluente, para reduzir os eritrócitos a estromas, deixando intactos os leucócitos para a contagem e produzindo uma solução na qual se pode dosar a hemoglobina. São necessários mais canais para proceder à contagem diferencial dos leucócitos, com frequência dependente da avaliação das células pela tecnologia de impedância com corrente elétrica de diversas frequências, pela dispersão e pela absorvância da luz. Para a contagem de reticulócitos, pode ser necessário um outro canal ou um outro instrumento.

Os instrumentos automatizados não conseguem identificar todas as anormalidades significativas identificadas pelo observador humano. Eles são projetados para fornecer contagens sanguíneas exatas e reprodutíveis em espécimes normais ou que apresentem apenas anormalidades numéricas bem como para alertar o operador do instrumento quanto a características inusitadas que possam dar origem a determinações inexatas ou que exijam a revisão de uma distensão sanguínea. Os resultados apresentarão “alarme” (flaging) quando a amostra de sangue contiver: (a) células blásticas, granulócitos imaturos,

eritroblastos ou linfócitos atípicos; (b) plaquetas gigantes, agregadas ou outro que impeça a separação da população de eritrócitos da de plaquetas e (c) anormalidade que possa originar resultados espúrios.

Um desafio aos instrumentos automáticos é a produção de índices hematimétricos exatos e a dosagem de Hb em pacientes de que receberam substitutos de sangue derivados de Hb. Isso é possível com instrumentos Bayer que medem individualmente o tamanho e a concentração de hemoglobina dos eritrócitos.

### **Instrumentos Beckman-Coulter**

Advento da Contagem por Impedância, ou seja, por obstrução da passagem de corrente elétrica. As células sanguíneas são péssimas condutoras de eletricidade e, quando colocadas em um meio condutor, que passa por uma pequena abertura por onde circula uma corrente elétrica, há um aumento mensurável da impedância elétrica na abertura, à medida que cada célula passa. Assim, são contadas e medidas as células a partir dos impulsos elétricos que geram. Cada impulso é proporcional ao volume celular e tem sua amplitude, sua duração e sua forma influenciadas pela forma celular. As células com maior deformidade, que podem alongar-se quando passam pela abertura em resposta às tensões do fluxo, parecem menores, enquanto as células rígidas parecem maiores do que são. Além disso, a deformidade é uma função da concentração de Hb dentro da célula.

Alguns impulsos aberrantes podem ocorrer em decorrência da passagem das células pela abertura fora do centro, produzindo impulsos maiores do que são, ou de células que voltam a circular pela borda do campo elétrico, produzindo impulsos menores do que os produzidos por células semelhantes ao passarem pela abertura; um eritrócito recirculante pode produzir um impulso semelhante ao de uma plaqueta passando pela abertura. Células que passam pela abertura ao mesmo tempo, ou quase ao mesmo tempo, são contadas e medidas como uma única célula, sendo a falta de exatidão introduzida, corrigida (correção de coincidência). Impulsos aberrantes podem ser editados eletronicamente. O fluxo centrado em uma bainha de solvente, ou o enfoque hidrodinâmico, podem orientar as células para o centro da abertura, reduzindo os problemas produzidos pela coincidência e pelos impulsos aberrantes. Tanto o fluxo centrado quanto o de varredura atrás da abertura evitam a recirculação de células. Os contadores de impedância produzem determinações muito reprodutíveis do volume celular e do conteúdo e concentração de Hb. Assim, os Instrumentos Coulter contam e medem os eritrócitos, os leucócitos e as plaquetas pela tecnologia de impedância e são fornecidos histogramas da distribuição por volume dos eritrócitos, das plaquetas e dos leucócitos.



Canal 1: os eritrócitos e as plaquetas são contados e medidos no mesmo canal. A variação do tamanho dos eritrócitos é indicada pela amplitude de distribuição volumétrica dos eritrócitos (RDW). O parâmetro equivalente das plaquetas é a amplitude de distribuição volumétrica das plaquetas (PDW). Com frequência há sobreposição de tamanho entre os eritrócitos pequenos e as plaquetas grandes, que podem ser distinguidas por um limiar fixo (p.ex. em 20 fL), por um limiar móvel, ou ainda serem utilizados os dados das contagens entre dois limiares (p.ex. 2 e 20 fL), para estabelecer uma curva que é extrapolada, de modo que as plaquetas que caem fora desses limiares (p.ex. entre 0 e 70 fL) também sejam incluídas na contagem. Da determinação do VCM e da contagem de eritrócitos deriva-se o HTC; da Hb e da contagem de eritrócitos, a HCM; da Hb, da contagem de eritrócitos e do VCM, a CHCM.

Canal 2: a hemoglobina e os leucócitos são contados em outro canal. Anteriormente, a Hb era determinada por um método modificado de cianometemoglobina que, subseqüentemente, foi substituído por um método que usa reagente isento de cianeto. Após a lise dos eritrócitos por ação de um agente lítico com o diluente, ocorre a contagem de leucócitos, que inclui alguns, mas não necessariamente todos, os eritroblastos encontrados.

Canal 3: contagem diferencial de leucócitos após remoção parcial do citoplasma. Os instrumentos Coulter primitivos (a série S Plus e o STKR) produzem uma contagem diferencial em três partes, baseada apenas na impedância (que depende do volume celular), resultando nas categorias de leucócitos: (1) granulócitos, (2) linfócitos e (3) células mononucleares. Os últimos instrumentos Coulter totalmente automatizados (Coulter STKS, MAXM, HmX, Gen S e LH750) fornecem uma contagem diferencial em cinco tipos celulares, por meio de três medições simultâneas em cada célula: (1) impedância com corrente eletromagnética de baixa frequência (que depende do volume celular); (2) condutividade com corrente eletromagnética de alta frequência ou radiofrequência (que depende da estrutura interna da célula, como densidade núcleo-citoplasma, densidade nuclear e granularidade) e (3) dispersão frontal da luz em 10 a 70° quando as células passam por um feixe de laser (que depende da estrutura, da forma e da reflexividade da célula). Em instrumentos recentes (p.ex. Gen S e LH750), o software permite uma correção de acordo com a influência do volume celular, da condutividade, que passa a ser chamada de opacidade, e da dispersão, que passa a ser chamada de dispersão luminosa rotada. A abreviação VCS – volume, condutividade, dispersão (scatter) – passa a ser usada. São discriminadas cinco populações pela análise tridimensional dos conglomerados (clusters) de células, com base no volume celular, na opacidade e na dispersão luminosa rotada, plotando-se o volume celular contra cada uma das três funções discriminantes: tamanho x função discriminante 1 (derivada da

dispersão de luz): separa as células em (1) neutrófilos, (2) eosinófilos, (3) monócitos, (4) linfócitos mais basófilos; tamanho x função discriminante 2 (baseada na condutividade com corrente eletromagnética de alta frequência): separa as células em (1) linfócitos, (2) monócitos, (3) granulócitos; tamanho x função discriminante 3 (obtida pela remoção específica (gating) dos neutrófilos e dos eosinófilos): mostra os basófilos como um conglomerado separado dos linfócitos e dos monócitos. Além desses, há um scatter-plot tridimensional multicolorido.

Canal 4: ainda pode haver o canal de reticulócitos.

### **Instrumentos Sysmex**

Também utilizam contagem por impedância, produzindo parâmetros similares, incluindo histogramas da distribuição do volume dos eritrócitos, dos leucócitos e das plaquetas e contagem diferencial em três tipos celulares ou, com tecnologia adicional, cinco ou seis tipos celulares.

A contagem diferencial dos leucócitos em três tipos celulares separa as células em: (1) linfócitos, (2) neutrófilos, (3) Eosinófilos mais Basófilos mais Monócitos.

Com tecnologia adicional, a contagem diferencial de leucócitos passou a separar as células em cinco tipos celulares. O Sysmex XE-2100 incorpora citometria de fluxo com fluorescência a um instrumento de múltiplos canais, que incluem laser, corrente contínua (para medidas de impedância) e corrente em radiofrequência (para determinar a estrutura interna das células).

Canal 1: dosagem de hemoglobina, usando um agente lítico potente e um reagente isento de cianeto (laurel-sulfato), que é atóxico, ecologicamente correto e minimiza os interferentes em amostras com lipemia, com leucocitose ou com nível de proteínas elevadas. O canal da Hb separado do canal da contagem dos leucócitos permite o emprego de um agente lítico forte, que impede que as altas contagens de leucócitos interfiram nas dosagens de Hb.

Canal 2: os eritrócitos e as plaquetas também são contados e medidos no mesmo canal, através de impedância em um fluxo com foco hidrodinâmico. Além dos parâmetros eritrocíticos usuais, são fornecidos volume plaquetário médio (MPV), amplitude de distribuição das plaquetas (PDW) e percentagem de plaquetas grandes (platelet large cell ratio – P-LCR, plaquetas maiores de 12 fL). Pode haver aumento de percentagem de P-LCR em pacientes com hiperlipidemias, o qual poderia causar aumento de risco de trombose, enquanto pode haver aumento de MPV, PDW e P-LCR nos pacientes com púrpura trombocitopênica auto-imune.

Canal 3: fórmula diferencial em que são medidas, após interação com um corante fluorescente: a dispersão lateral da luz (SSC), indicativa da estrutura interna da célula; a dispersão frontal da luz (FSC), indicativa do tamanho celular; e a intensidade da fluorescência (SFL), indicativa do tamanho do núcleo. São identificados (1) neutrófilos, (2) eosinófilos, (3) linfócitos e (4) monócitos. Granulócitos imaturos também são contados nesse canal.

Canal 4: medição dos basófilos, pois lisa todas as células exceto estas, diferenciando-as dos outros leucócitos através da dispersão da luz frontal e lateral.

Canal 5: canal NRBC, no qual há medição dos eritroblastos, após sua lise e interação com um corante fluorescente, diferenciando-os dos leucócitos e dos estromas de eritrócitos pela intensidade de fluorescência e pela dispersão frontal da luz. Corrige automaticamente as contagens de leucócitos. Os eritroblastos são menos fluorescentes e dispersam menos luz do que os leucócitos. A persistência de eritroblastos no sangue periférico após transplante de células-tronco é significativa para pior prognóstico.

Canal 6: canal IMI (immature myeloid information), com a medição dos granulócitos imaturos, que diferenciam-se dos leucócitos maduros após lise diferencial e análise dos grupos por impedância e corrente de radiofrequência. A contagem absoluta de células primitivas hematopoiéticas (HPC) é uma determinação útil para o momento ótimo para a colheita de células-tronco no sangue periférico, além de prever quando é vantajoso fazer a determinação mais lenta e dispendiosa de células CD34+.

Canal 7: canal RET, onde há medição dos reticulócitos e das plaquetas ópticas, com a contagem de plaquetas imaturas (plaquetas reticuladas). Há aumento da fração de plaquetas imaturas em turnover plaquetário acelerado, como na púrpura trombocitopênica trombótica e na hipertensão associada à gravidez. O canal de reticulócitos também pode ser usado para contar e monitorizar fragmentos eritrocitários em pacientes com anemia hemolítica microangiopática.

### **Instrumentos Bayer**

Os instrumentos da Bayer contam e medem as células por dispersão de luz, ao contrário dos instrumentos já vistos, que utilizam a impedância elétrica. Uma célula, ao passar através de um feixe luminoso, dispersa a luz, que pode ser detectada por sensores fotópticos dispostos lateralmente ao feixe. O grau de dispersão relaciona-se com o tamanho celular, de modo que as células podem ser contadas e medidas. Colocando-se um detector frontalmente ao feixe, pode ser medida também a absorvância da luz. O feixe luminoso pode ser de luz branca ou de laser coerente de grande intensidade, este com qualidade óptica

superior. O detector pode ser um fotomultiplicador ou um fotodiodo, que convertem a luz em impulsos elétricos acumulados e contados.

A série H.1 conta e mede as células utilizando a luz branca para os leucócitos e o laser para os eritrócitos e as plaquetas. Os eritrócitos são convertidos de modo isovolumétrico em esferas, de modo que a dispersão da luz não seja influenciada pela forma da célula. As células passam por um raio laser, e a luz dispersada frontalmente é medida em diferentes ângulos, um estreito (2 a 3°) e um mais largo (5 a 15°), cuja comparação permite a computadorização do tamanho e da concentração da hemoglobina das células, uma a uma. São fornecidos histogramas da distribuição das células por volume, que permite a derivação do VCM, da RDW e do HCT, e por concentração de hemoglobina, que permite a derivação da média das concentrações corpusculares de Hb (MCCH) e da amplitude de distribuição de Hb (HDW). A hemoglobina é determinada por uma modificação da metodologia da cianometemoglobina, e a HCM e a CHCM são computadas a partir da hemoglobina, da contagem de eritrócitos e do VCM. A MCCH e a CHCM representam a concentração média da hemoglobina em uma célula e devem fornecer o mesmo resultado. Medidas similares de dispersão de luz em dois ângulos diferentes permitem contar e medir as plaquetas (contagem de plaquetas e VPM), além de serem computados o plaquetócrito e o PDW.

Os instrumentos da série H.1 fornecem determinações exatas de VCM, HCT e CHCM, concordantes com os métodos de referência, conseguindo corrigir a inexatidão dos primeiros instrumentos de dispersão de luz, nos quais a dispersão luminosa era influenciada pela concentração da Hb e pelo tamanho celular, e as inerentes aos contadores por impedância, nos quais a sombra elétrica era influenciada pela deformidade e pelo tamanho celular. Não são medidas com exatidão as células que não podem ser convertidas em esferas isovolumétricas, como as células falciformes, por exemplo.

A contagem diferencial da série H.1 deriva de dois canais. O canal da peroxidase, que utiliza a luz branca, incorporando uma reação citoquímica na qual a peroxidase dos neutrófilos, dos eosinófilos e dos monócitos age sobre um substrato, produzindo um produto negro, que absorve luz. A dispersão da luz (proporcional ao volume celular) é plotada contra a absorvância da luz (proporcional à intensidade da reação de peroxidase). São formados quatro conglomerados: (1) neutrófilos, (2) eosinófilos, (3) monócitos e (4) linfócitos mais basófilos, separados por uma combinação de limiares fixos e móveis. Há outro conglomerado de células peroxidase-negativas e maiores do que a maioria dos linfócitos, as "células grandes não-coradas" (LUC). O canal basófilo/lobularidade é onde os basófilos são distinguidos dos demais leucócitos pela sua resistência à perda do citoplasma frente a um agente lítico em meio ácido, de modo que, medidos por dispersão frontal da luz, são maiores que os resíduos sem citoplasma das demais células. Neste canal também é detectada a presença de

blastos, em que a dispersão frontal da luz (proporcional ao tamanho celular) é plotada contra a dispersão da luz em grande ângulo (medida do aumento da densidade nuclear e da lobulação). Os blastos são detectados como uma população com densidade nuclear anormalmente baixa. Além disso, o índice de lobularidade (LI) é uma determinação das células que produzem muita dispersão de luz em ângulo grande (neutrófilos lobulados) e das que produzem menos dispersão (células mononucleares, granulócitos imaturos e blastos).

O instrumento Advia 120 opera nos mesmos princípios, porém, o número total de células nucleadas é fornecido pelo canal basófilo/lobularidade em vez de pelo canal da peroxidase. O instrumento Advia 2120 incorpora um método de dosagem de hemoglobina isento de cianeto, contagem de eritroblastos, correção do CTCN para a contagem de leucócitos e um distensor de lâminas, com ajuste automático pelo hematócrito e pela contagem de leucócitos.

### **Instrumentos Abbott (Cell-Dyn)**

O Cell-Dyn 3500 (Abbott diagnostics) é um instrumento automático de múltiplos canais que utiliza tanto a dispersão de laser quanto a tecnologia de impedância. A hemoglobina é determinada como cianometemoglobina. Os eritrócitos, os leucócitos e as plaquetas são contados e medidos por impedância, depois da remoção do citoplasma dos leucócitos. São fornecidos histogramas da distribuição por volume celular.

A contagem dos leucócitos também é feita por um canal de dispersão de laser, que fornece uma fórmula leucocitária em cinco partes. Os leucócitos, praticamente íntegros, são dirigidos hidrodinamicamente para passarem em fila única através do feixe laser. Nesse canal, os eritrócitos tornam-se transparentes, porque seu índice de refração é o mesmo do reagente da bainha do fluido. São analisados quatro padrões de dispersão luminosa: (1) Dispersão luminosa frontal a  $1$  a  $3^\circ$  (referida como dispersão a  $0^\circ$ ), dependente principalmente do tamanho celular; (2) Dispersão luminosa em ângulo estreito, de  $7$  a  $11^\circ$  (chamado de dispersão a  $10^\circ$ ), dependente da estrutura e da complexidade celular; (3) Dispersão ortogonal de luz totalmente polarizada a  $70^\circ$  a  $100^\circ$  (chamada de dispersão a  $90^\circ$ ); (4) Dispersão ortogonal de luz despolarizada a  $70^\circ$  a  $100^\circ$  (chamada de dispersão a  $90^\circ$  D).

São fornecidos gráficos de dispersão das populações de leucócitos, que são inicialmente separadas em (1) granulócitos e (2) células mononucleares, com base na lobularidade e na complexidade. Em seguida, os granulócitos são separados em (1) eosinófilos e (2) neutrófilos, com base na capacidade única dos eosinófilos de despolarizarem a luz. Depois, as células mononucleares são separadas em (3) monócitos, (4) linfócitos e (5) basófilos degranulados (os grânulos basofílicos são solúveis no reagente da bainha fluida), com base no

tamanho e na complexidade celulares. Finalmente, são indicadas as cinco populações (codificadas pela cor) em uma plotagem da lobularidade contra o tamanho. Células com características anômalas geram alarmes para blastos, linfócitos atípicos, eritroblastos e granulócitos imaturos. A contagem de leucócitos por duas tecnologias serve como um mecanismo interno de controle de qualidade.

O Cell-Dyn 4000 incorpora a contagem automática de reticulócitos e de eritroblastos. O Cell-Dyn Sapphire incorpora quatro detectores ópticos para luz polarizada e despolarizada e três detectores de fluorescência. Neste, o tipo de laser e os reagentes diferem dos usados nos instrumentos anteriores, mas os princípios são os mesmos.

### **Instrumentos Horiba ABX**

Os eritrócitos, os leucócitos e as plaquetas são contados e medidos por tecnologia de impedância, sendo fornecidos histogramas da distribuição do volume. O HCT é determinado pela integração da amplitude dos sinais elétricos gerados pelos eritrócitos, com correção da coincidência. As plaquetas são diferenciadas dos eritrócitos por um limite flutuante entre 18 3 25 fL. A hemoglobina é dosada por cianometemoglobina ou por oxidação do ferro do heme, seguida por estabilização, para produção de substâncias cromogênicas passíveis de dosagem. A contagem diferencial baseia-se em dois canais. Em um canal, após interação das células com negro-clorazol E (o princípio ativo do Sudan black B), são feitas determinações de absorvância e de impedância. O corante cora intensamente os grânulos dos eosinófilos, um pouco menos os dos neutrófilos e fracamente os dos monócitos; a absorvância de luz das células coradas é determinada pela intensidade de coloração dos grânulos e pelo grau de complexidade do núcleo. Em um segundo canal, os basófilos, após desnudamento diferencial do citoplasma, são diferenciados dos demais leucócitos por medidas de impedância. As diversas populações de leucócitos são dispostas em gráfico correlacionando absorvância luminosa contra impedância e são identificadas com limiares móveis.

Linfócitos atípicos são contados separadamente, mas também são incluídos na contagem total de linfócitos, ao contrário dos instrumentos Bayer, em que as células grandes não-coradas são contadas separadamente e excluídas da contagem de linfócitos. Células grandes imaturas são contadas separadamente, mas também são incluídas ou na categoria dos neutrófilos ou dos monócitos, dependendo da absorvância. A categoria dos linfócitos atípicos pode incluir células da mononucleose infecciosa, células linfomatosas, células da leucemia linfocítica crônica, blastos pequenos e plasmócitos. A categoria das células grandes imaturas pode incluir mieloblastos, monoblastos, promielócitos,

mielócitos, metamielócitos, linfoblastos e células linfomatosas. O Pentra DX 120 também oferece contagem de reticulócitos.

## **Parâmetros avaliados pelos contadores automáticos e seu significado**

### **Parâmetros de avaliação eritrocitária**

O processo de produção de RBC denomina-se eritropoiese e ocorre na medula óssea (MO) por diferenciação de células progenitoras e precursoras tronco (figura 16), desde o pró-eritroblasto até a libertação do reticulócito na corrente sanguínea. Após cerca de 24 horas o reticulócito (RET) transforma-se em RBC. A vida média dos RBC é de 120 dias e diariamente cerca de 1% do RBC são renovados. Os diferentes parâmetros para estudo eritrocitário permitem a avaliação de patologias associadas a alterações dos RBC, desde anemias (capacidade diminuída do transporte de oxigénio devido à diminuição da concentração de Hb) a policitemias (aumento do número de RBC com consequente aumento da viscosidade do sangue).

As anemias podem ocorrer devido à produção de RBC com composição ou morfologia alterada, devido a perda sanguínea ou a destruição acelerada (hemólise). As anemias podem ter uma causa genética, nutricional ou hemorrágica.

A classificação das anemias é feita com auxílio da análise de parâmetros eritrocitários fornecidos pelos contadores automáticos, que são descritos em seguida.

### **Hb (hemoglobina)**

A concentração de hemoglobina é determinada espectrofotometricamente nos autoanalisadores através da tecnologia SLS-Hb. Nesta metodologia é utilizado um reagente de lise dos RBC libertando a Hb, que é oxidada a metahemoglobina por ação do SLS (laurel-sulfato-sódio) formando um complexo estável e corado (SLS-Hb) cuja absorvância é lida espectrofotometricamente a um comprimento de onda de 550nm, (variando um pouco entre os aparelhos). O valor de absorvância é proporcional à concentração de Hb na amostra. Este método é influenciado pela turbidimetria da amostra, que pode ser alterada por lipémia ou por leucocitose. A determinação da Hb é importante para o diagnóstico de anemias, pois o seu valor nestas situações está diminuído.

### **Hct (hematócrito)**

O hematócrito corresponde ao volume de RBC por volume total de sangue, sendo expresso em L/L (U.I.) ou em percentagem. Para um mesmo número de RBC podem corresponder valores de Hct diferentes. No caso de

desidratação, a diminuição do volume plasmático gera valores mais elevados de Hct; enquanto que no caso de hipervolemia os valores são menores.

### **MCV (volume corpuscular médio)**

Corresponde à média do volume dos RBC, expresso em femtolitros (fL). É um parâmetro muito usado na classificação de anemias, por estar associado a alterações no tamanho dos RBC. A anemia classifica-se como normocítica quando os valores de MCV estão dentro dos valores de referência (80-100fL), como macrocítica quando o valor de MCV é superior a 100fL (RBC macrocíticos) e como microcítica quando o seu valor é inferior a 80fL (RBC microcíticos). É determinado pelos aparelhos automáticos mas pode também ser calculado pela fórmula:(1, 24)  $MCV = Hct (L/L) / n^{\circ}RBC (x10^{12}/L)$ .

### **MCH (hemoglobina corpuscular média)**

Este parâmetro corresponde ao conteúdo de Hb por RBC. Pode ser calculado pela seguinte fórmula, expressando o resultado em picogramas (pg ou 10-12g)(1):  $MCH = Hb(g/dL) / n^{\circ}RBC (x10^{12}/L)$  Os valores normais para este parâmetro são de 27-32pg.

### **MCHC (concentração de hemoglobina corpuscular média)**

Este parâmetro corresponde à concentração média de Hb por RBC e é expresso em g/dL. É usado para classificar as anemias morfológicamente, como normocrômicas com valores de MCHC dentro dos valores de referência (31-35g/dL), ou hipocrômicas, para valores inferiores a 28g/dL (RBC hipocrômicos). O seu valor pode também ser calculado pela seguinte fórmula(1):  $MCHC = Hb(g/dL) / Hct (L/L)$ .

### **“Hypo” e “Hyper” (células hipocrômicas e hiperocrômicas)**

Este parâmetro indica a percentagem de células hipocrômicas e hiperocrômicas na amostra em análise, ou seja, a percentagem (%) de RBC com menor conteúdo de Hb, ou % de RBC com maior conteúdo de Hb, respetivamente.

### **Micro e Macro (células microcíticas e macrocíticas)**

Este parâmetro indica a percentagem de células microcíticas e macrocíticas na amostra em análise. As células com tamanho superior ao normal são denominadas de macrocíticas e as que apresentam tamanho menor, de microcíticas.



### **RDW (“red cell distribution width”)**

É medido como o coeficiente de variação da distribuição do tamanho dos RBC, indicando o grau de anisocitose dos RBC. O RDW pode ser utilizado para o diagnóstico diferencial de anemias, uma vez que os seus valores são habitualmente normais no caso de talassemia minor, estão aumentados no caso de anemia por deficiência de ferro, assim como em anemias megaloblásticas, estando no entanto normais no caso de macrocitose por outras causas. Quando existem tanto macrócitos como micrócitos na mesma amostra, o MCV pode ser normal, no entanto, o valor de RDW aumenta, permitindo identificar estas alterações.

### **HDW (“Hemoglobin distribution width”)**

Representa o grau de anisocromia, ou seja, a variação da concentração de Hb dos RBC. Aumenta por exemplo no caso de uma anemia sideroblástica, em doentes com hipocromia que são transfundidos com RBC normais do dador; pode ainda, aumentar no caso de esferocitose hereditária e de anemias hemolíticas auto-imunes.

### **MSCV (volume celular esférico médio)**

Este parâmetro quando utilizado com o MCV permite fazer a distinção entre esferocitose hereditária e talassemia. Quando o MCV é superior ao MSCV é provável tratar-se de esferocitose hereditária, enquanto que no caso contrário (MSCV > MCV) indica que é possivelmente uma talassemia. Representa a média de volume de toda a população eritrocitária (RET e RBC).

### **RET (reticulócitos)**

Os RET são precursores dos RBC e correspondem aos RBC imaturos na circulação sanguínea. Têm uma maturação de 3 a 5 dias na MO e são depois lançados na corrente sanguínea onde completam a sua maturação em 1 dia. O seu valor no sangue é representativo da atividade da MO, sendo, por isso, importantes para diferenciar anemias hipoproliferativas (ex: anemia por deficiência em ferro) de anemias hiperproliferativas (ex: anemia hemorrágica).

### **MCVr, MCHr, MCHCr (equivalente ao MCV, MCH e MCHC para os RET)**

### **Ret-He (equivalente de Hb dos RET/ MCHr (Conteúdo de Hb do RET)/ MRV (volume reticulocitário médio)**

A presença de RET com baixo conteúdo de Hb, hipocrómicos, indica uma diminuição na síntese de Hb. Este parâmetro é importante no diagnóstico precoce da anemia por deficiência de ferro, e na monitorização da resposta à terapêutica com ferro. Estes marcadores são também

importantes na detecção precoce de alterações na eritropoiese mesmo quando o ferro está disponível em concentrações normais, mas existe um bloqueio na sua incorporação na Hb, como acontece nas anemias associadas a doenças inflamatórias e neoplásicas.(13, 24, 28, 32)

#### **IRF (fração de reticulócitos imaturos)**

Este parâmetro indica a proporção de reticulócitos jovens, imaturos, presentes na circulação periférica. Como os RET imaturos são libertados na corrente sanguínea em períodos de eritropoiese acelerada, como acontece numa hemorragia, em algumas anemias e na terapêutica com estimuladores da eritropoiese, é um parâmetro útil na avaliação do grau de eritropoiese. É também um bom indicador para monitorizar a resposta ao tratamento, de alguns tipos de anemias, e da regeneração da MO após quimioterapia ou transplante de células progenitoras. Permite uma avaliação precoce da eritropoiese, pois o valor de RET imaturos aumenta primeiro que o valor total de RET, com uma antecedência de alguns dias.

#### **HLR (reticulócitos de elevada dispersão)**

Os reticulócitos de elevada dispersão são determinados pela seguinte fórmula:  $HLR = RET \times IRF$ , ou seja corresponde ao valor de RET mais imaturos, com maior fluorescência. É um parâmetro considerado como bom indicador de anemia hemolítica ou de outras situações associadas com eritropoiese acelerada, aumentando o seu valor.

#### **NRBC (RBC nucleados – eritroblastos)**

Os eritroblastos são células precursoras dos RBC e, excetuando o período neonatal, são normalmente encontradas somente na MO. A sua presença no sangue periférico não é normal e é o reflexo de um aumento extremo da atividade eritropoiética, habitualmente com eritropoiese extramedular, ou resultado de lesão da MO. A presença de NRBC pode interferir diretamente na contagem de WBC em alguns contadores automáticos, por serem contados, erradamente, como WBC.

#### **Parâmetros de avaliação plaquetária**

As plaquetas são fragmentos de megacariócitos, com uma função importante na hemostase. As plaquetas circulam em média cerca de 10 dias no sangue e após esse tempo são removidas e destruídas no baço.

### **MPV (volume médio plaquetário)**

O MPV reflete o volume médio das PLT em circulação, sendo que estas podem variar de tamanho e atividade funcional. As PLT gigantes têm habitualmente uma funcionalidade maior que as PLT normais. O MPV aumenta quando há um aumento da produção de PLT, que é acompanhado pela entrada de PLT mais jovens na circulação. Tem-se revelado útil na diferenciação de trombocitopenias de origem central (medular) ou periférica. Na trombocitopenia de origem central, o MPV está diminuído pois há uma menor produção de PLT e as que entram em circulação são mais maduras e de pequeno volume. Nas trombocitopenias periféricas acontece o oposto, já que o “turnover” elevado faz com que haja aumento de produção e, portanto, de macroplaquetas na circulação. As plaquetas maiores são as mais jovens, mais reativas e produzem mais fatores trombogênicos (maior conteúdo de tromboxano A<sub>2</sub>, agregam mais facilmente in vitro, contêm mais grânulos densos, têm maior expressão dos receptores de membrana). Por isso, um aumento do MPV tem sido associado com morbidade cardiovascular e cerebrovascular, sendo proposto como um fator de risco independente para enfarte de miocárdio em pacientes com doença coronária; e também um fator de risco de mortalidade ou de eventos recorrentes isquêmicos de enfarte de miocárdio.

### **PDW (Platelet distribution width)**

O PDW indica a heterogeneidade dos volumes plaquetários, indicando a presença de anisocitose plaquetária.

### **LPLT (plaquetas gigantes)**

Este parâmetro é o correspondente ao IPF do autoanalisador Sysmex, representando a porção de plaquetas gigantes, ou seja, de plaquetas mais imaturas, recém-formadas. O aumento do LPLT está habitualmente associado a trombocitopenias com MPV e PDW elevados.

### **PLT-O (plaquetas contadas pelo método ótico)**

A contagem de PLT efetuada pelo método ótico permite aumentar a exatidão da contagem de plaquetas numa amostra, por comparação das duas determinações, pelo método ótico e de impedância. O método de impedância apresenta mais interferências na sua determinação, nomeadamente pela presença de fragmentos de RBC, de WBC, bolhas de ar, parasitas ou microcoágulos. Neste método de contagem por impedância as PLT são identificadas e analisadas apenas pelo seu volume celular, enquanto que no método ótico é avaliada a complexidade das células e a sua densidade ótica.

### **IPF (“immature platelet fraction”)**

Este parâmetro só é fornecido pelo autoanalisador Sysmex XE-5000. O IPF corresponde às PLT jovens presentes na circulação periférica, que contêm vestígios de RNA. É um parâmetro de avaliação análogo ao dos RET, para a linhagem de RBC. Como se referiu, as PLT imaturas são mais reativas que as maduras. O seu valor contribui para a avaliação da atividade trombopoietica e do aumento do consumo plaquetário. O valor de IPF aumenta quando há aumento a produção de PLT e diminui quando há falha na sua produção, sendo por isso útil no diagnóstico diferencial de trombocitopenias. Assim, o IPF apresenta valores aumentados quando há destruição/consumo periférico em doenças como a PTI e PTT, e valores diminuídos quando há falência medular. Este parâmetro pode ser usado para monitorizar a recuperação da produção de PLT pela MO após transplante de células progenitoras hematopoiéticas, para avaliar a recuperação medular após quimioterapia ou radioterapia, uma vez que a IPF aumenta antes da recuperação do valor de PLT. Pode ocorrer a formação de agregados plaquetários quando se utiliza o EDTA como anticoagulante. Neste caso haverá uma contagem errónea do número de PLT, assim como nos índices plaquetários.

Os autoanalisadores não são capazes de contabilizar as PLT presentes nos agregados plaquetários, resultando por isso numa contagem falsamente diminuída do número de PLT. Estes agregados plaquetários podem ser do tamanho dos WBC, sendo, por isso, contados como WBC nas contagens automáticas.

### **Parâmetros de avaliação leucocitária**

Os leucócitos são células presentes no sangue, linfa, órgãos linfoides e tecido conjuntivo. Fazem parte do sistema imunitário e apresentam uma função importante no combate e eliminação de microrganismos invasores, por fagocitose e produção de anticorpos. Uma diminuição dos valores de WBC, ou leucopenia, torna os indivíduos mais suscetíveis a infeções; o seu aumento designa-se por leucocitose e ocorre normalmente como resposta a infeções, inflamações e “stress” e hemopatias malignas.

Os WBC são divididos em dois grupos principais, os granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e os agranulócitos (monócitos e linfócitos). Os neutrófilos (NEUT) desempenham um papel importante na defesa contra infeções bacterianas e em processos inflamatórios. Os eosinófilos (EOS) participam na defesa contra infeções parasitárias e processos alérgicos. Os basófilos (BASO) libertam mediadores químicos como a histamina (vasodilatador) e a heparina (anticoagulante), e participam também em reações

alérgicas. Os linfócitos (LINF) participam na resposta imunitária, nomeadamente contra vírus, e são responsáveis pela produção de anticorpos. Os monócitos (MONO) passam do sangue aos tecidos onde se transformam em macrófagos, responsáveis pela fagocitose de microrganismos invasores.

### **IG (granulócitos imaturos)**

Os granulócitos imaturos correspondem aos precursores de granulócitos, que incluem os mieloblastos, promielócitos, mielócitos e metamielócitos. Nos aparelhos automáticos são contados em conjunto como IG, exceto os mieloblastos, não sendo, portanto, diferenciados como células diferentes. A presença de IG no sangue periférico reflete a atividade da MO e pode surgir em resposta a infeções, sendo um resultado útil no diagnóstico de processos infecciosos, nomeadamente sépsis. A hemocultura é o parâmetro usado por rotina no diagnóstico de infeções bacterianas sanguíneas, mas como o tempo de incubação é muito longo, o valor de IG pode ser um bom meio auxiliar de diagnóstico, que deveria ser mais valorizado na prática clínica. Este parâmetro é também importante no diagnóstico de leucemia mieloide crónica (LMC), e de outras hemopatias malignas.

### **LUC (large unstained cells)**

As LUC correspondem a células atípicas no sangue periférico, de grande tamanho e peroxidase negativas (linfócitos grandes atípicos, plasmócitos e blastos). Um valor de LUC inferior a 4% deve considerar-se normal; no entanto, quando é superior, deve fazer-se um esfregaço sanguíneo para observação microscópica. Quando um valor aumentado de LUC é acompanhado de leucocitose, trombocitopenia e/ou anemia, é provável a existência de uma patologia hematológica maligna. Quando o aumento de LUC se apresenta isolado, com confirmação microscópica de ausência de células atípicas, pode ser indicativo de um défice de peroxidase granulocitária.

### **PMN (polimorfonucleares), MN (mononucleares) e LI (índice de lobularidade)**

Os WBC polimorfonucleares ou granulócitos (NEUT, EOS, BASO), diferenciam-se pela sua granulação secundária. Sem essa granulação, os granulócitos apresentam um padrão morfológico semelhante. Os WBC mononucleares são os restantes WBC, os LINF e MONO, importantes no sistema imune e combate a infeções.

A quantificação dos PMN e MN é feita no Advia 120, no canal dos basófilos, onde são originadas diferentes populações (figura 25). No citograma gerado são representados os basófilos e os diferentes tipos de núcleos celulares, o que permite distinguir os blastos, os MN (MONO e LINF) e os PMN (NEUT e

EOS). Este canal permite a determinação do índice de lobularidade, que é a relação entre o número de células que produzem elevada dispersão de luz (PMN com maior lobularidade) e as células com menor dispersão de luz (mononucleares, granulócitos imaturos e blastos). O índice de lobularidade é um indicador de desvio à esquerda. Uma redução do LI, sugere, portanto, uma redução da lobulação dos WBC e, por isso, um desvio à esquerda para a população granulocítica.

### **WBCP (WBC no canal PEROX)**

Este parâmetro corresponde à contagem de WBC no canal peroxidase. A contagem de WBC neste canal permite uma comparação com a determinação no canal BASO de modo à obtenção de um resultado o mais correto possível.

### **HPC (células hematopoiéticas circulantes)**

As células indiferenciadas hematopoiéticas são identificadas e avaliadas por citometria de fluxo, recorrendo ao marcador anti-CD34. Uma vez que este método é dispendioso e demorado, a determinação de HPC pelo contador da Sysmex é considerado um método alternativo para a quantificação destas células. As células HPC são identificadas no canal IMI do Sysmex com base na sua resistência ao reagente de lise, volume e estrutura interna. Este parâmetro é usado como um auxiliar no acompanhamento de tratamentos. Com o aumento do número de transplantes de células estaminais, como terapia, tornou-se importante a existência de uma tecnologia que detete e conte as células progenitoras hematopoiéticas. Assim, a contagem de HPC pode ser utilizada para prever a altura ideal para a colheita dessas células em doentes que irão realizar transplante autólogo ou alogénico das células estaminais da MO.

### **Conclusão**

Os autoanalísadores automáticos de tecnologia cada vez mais evoluída, permitem a avaliação de um número de parâmetros cada vez mais elevado. Todos os parâmetros fornecidos exigem um nível elevado de conhecimento por parte dos especialistas para sua avaliação e correta interpretação. De facto, é importante conhecer bem os equipamentos com os quais se trabalha, bem como o significado dos alertas e os procedimentos a seguir, para sua confirmação. A validação tecnológica comparativa permite trabalhar com segurança. A automatização nos laboratórios é essencial em hematologia. O controlo microscópico/visualização de amostras patológicas ou com alterações, permanece indispensável. O mais importante na análise dos resultados fornecidos por um autoanalísador, é conhecer as suas limitações, possíveis interferências e saber interpretar os valores apresentados. Os analisadores

avaliam cada vez mais parâmetros que podem ser de grande importância como auxiliares de diagnóstico. Os parâmetros reportáveis pelos aparelhos, para além daqueles incluídos no hemograma, poderão ser implementados como parâmetros de rotina em hematologia, no futuro. Podem ser úteis no diagnóstico precoce e na monitorização mais avançada de doenças hematológicas e do seu tratamento. Para o bom funcionamento de um laboratório de hematologia é fundamental não esquecer a importância da implementação de um sistema de gestão da qualidade, estabelecendo programas de controlo interno e externo, e garantindo a correta manutenção de todos os equipamentos para que possam ser utilizados com o máximo potencial.

## Referências Bibliográficas

- 1) Automated cell counting analyzers 2011:(1-15 pp.). Available from: <http://webmedia.unmc.edu/alliedhealth/CLS/CLS417%2011/11Auto%20Unit%20Cell%20Counting%20Instruments%20Handout.pdf>.
- 2) Kratz A, M.D, Ph.D, M.P.H. Quantitative hematology: Automated Cell Counters. Available from: [http://www.pathology.columbia.edu/education/residency/quant\\_heme.pdf](http://www.pathology.columbia.edu/education/residency/quant_heme.pdf).
- 3) Lehnera J, Greveb B, Cassensa U. Automation in Hematology. Transfusion Medicine and Hemotherapy. 2007;34:328-39.
- 4) Bacall NS. Analisador automático hematológico e a importância de validar novos equipamentos em laboratórios clínicos. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2009;31:218-20.
- 5) Stove V. Automated blood cell count 2012:(1-34 pp.). Available from: [http://www.bhs.be/frontend/files/userfiles/files/20112013\\_Educational\\_Courses/Seminar\\_1 -Stove-Presentation.pdf](http://www.bhs.be/frontend/files/userfiles/files/20112013_Educational_Courses/Seminar_1 -Stove-Presentation.pdf).
- 6) Fluorescence flow cytometry 2005:(1-12 pp.). Available from: [http://www.sysmex.se/files/articles/Xtra\\_FFC.pdf](http://www.sysmex.se/files/articles/Xtra_FFC.pdf).
- 7) XE-5000, automated hematology analyzer 2011. Available from: [https://www.sysmex.com/us/en/Brochures/Brochure\\_XE-5000\\_MKT-10-1126.pdf](https://www.sysmex.com/us/en/Brochures/Brochure_XE-5000_MKT-10-1126.pdf).
- 8) Introduction to Hematology Technology 2009. Available from: [http://www.sysmex.co.jp/en/ir/data\\_irreport/annual/pdf/2009/sysmexAR2009](http://www.sysmex.co.jp/en/ir/data_irreport/annual/pdf/2009/sysmexAR2009)
- 9) Brown M, Wittwer C. Flow Cytometry: Principles and Clinical Applications in Hematology. Clinical Chemistry. 2000;46:1221-9.  
Cornar SR, Silva Pd. Determinação laboratorial e aplicação clínica dos parâmetros de volume plaquetário. Revista Brasileira de Análises Clínicas. 2009;41:257-65.
- 10) Briggs C. Quality counts: new parameters in blood cell counting. International Journal of Laboratory Hematology 2009;31:277-97.



- 11) Broome HE. Validating the Blood count and Auto-differential. American Association for Clinical Chemistry.
- 12) Helena Z, Grotto W. Diferenciação das anemias microcíticas utilizando a determinação do RDW. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.2008;30:85-8.
- 13) Orkin S, Nathan D, Ginsburg D, Look T, Fisher D. Hematology of Infance and Childhood. 7ª ed: Elsevier; 2009. 459-61.
- 14) Broseus J, Visomblain B, Guy J, Maynadie M, Girodon F. Evaluation of mean sphered corpuscular volume for predicting hereditary spherocytosis. International Journal of Laboratory Hematology. 2010;32:519-3.
- 15) Acton QA. Issues in Hematology. Georgia: Scholarly Editions; 2011.
- 16) Fourcade C, Jary L, Belaouni H. Reticulocyte Analysis Provided by the Coulter GEN.S: Significance and Interpretation in Regenerative and Nonregenerative Hematologic Conditions. Laboratory Hematology. 1999.
- 17) Novos parâmetros em hematologia. 41ºCongresso Brasileiro de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial; Salvador: Sysmex; 2007.
- 18) Mean Platelet Volume: ClinLab Navigator; 2013 (cited 2014, Maio). Available from: <http://www.clinlabnavigator.com/mean-platelet-volume.html>.
- 19) Shinton NK. CRC desk reference for hematology: CRC Press; 1998.
- 20) Mirzaie AZ, Abolhasani M, Ahmadinejad B, Panahi M. Platelet count and MPV, routinely measured but ignored parameters used in conjunction with the diagnosis of acute coronary syndrome: single study center in Iranian population, 2010. Medical Journal of Islamic Republic of Iran. 2012;26:17-21.
- 21) Pinkowski R. Difference between impedance and optical platelet count methods in patients with microcytosis of red blood cells. Laboratory Hematology. 1999;5:22-7.
- 22) Senthilnayagam B, Kumar T, Sukumaran J, M. J, K. RR. Automated Measurement of Immature Granulocytes: Performance Characteristics and Utility in Routine Clinical Practice. Hindawi Publishing Corporation. 2012.

23) Ferrazzi DP, Silva PHd, Henneberg R. Neutrófilo bastonete tem correlação com infecção bacteriana aguda? *Visão Acadêmica*. 2013;14:99-108.

24) Grotto HZW. Granulócitos Imaturos (IG) - Revendo conceitos. Available from: [http://static.labnetwork.com.br.s3.amazonaws.com/wordpress/wpcontent/uploads/2013/10/SYSMEX\\_Granul%C3%B3citos-Imaturos.pdf](http://static.labnetwork.com.br.s3.amazonaws.com/wordpress/wpcontent/uploads/2013/10/SYSMEX_Granul%C3%B3citos-Imaturos.pdf).

25) László K, Patonai Z, Kellner V, Fekete M. Which value can be used for LUC as a positivity threshold for making slides?2012. Available from: [http://www.mldt.hu/upload/labor/document/Laszlo\\_Kinga\\_poszter.pdf](http://www.mldt.hu/upload/labor/document/Laszlo_Kinga_poszter.pdf).

26) Merino A. Valores normales del hemograma: ¿cuándo hay que alarmarse? *Janoes*. 2008:42-6.

27) Franco S. Liqueur: Sergio Franco, *Medicina Diagnostica*; (cited 2014 Junho). Available from: <http://www.sergiofranco.com.br/bioinforme/index.asp?cs=FluidosBiologicos&ps=liqueur>.

28) Cymbalista F, Letestu R. Haematopoietic Progenitor Cell (HPC) Counts on the Sysmex XE-2100: A new tool for peripheral blood stem cell (PBSC) harvest monitoring. *Sysmex Journal*. 2005;15:21-6.

29) Sysmex. FDA approval for haematology HPC parameter. Laboratory Talk. 2014.

30) [www.cenapro.com.br/noticias.detalhes.asp?codigo=332](http://www.cenapro.com.br/noticias.detalhes.asp?codigo=332) (acesso em 9 de Julho de 2018).