



**Contagem globular automática: parâmetros avaliados,  
significado clínico e causas de erro.**

Autor: Daniela Sofia Gonçalves Pimenta Almeida Braga

Monografia do 2º Ciclo de estudos conducente ao Grau de Mestre em Análises Clínicas

Trabalho realizado sob orientação da Professora Alice Santos Silva com co-orientação do Professor Elísio Costa.

Julho de 2014

É autorizada a reprodução integral desta Monografia apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

## Agradecimentos

Agradeço à minha Orientadora, Professora Alice Santos Silva pelo tempo e dedicação disponibilizados para me auxiliar na realização desta Monografia, assim como ao Professor Elísio Costa, meu co-orientador, pois foram muito importantes para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

Agradeço à Diretora Técnica do Laboratório onde trabalho, Dr<sup>a</sup> Maria José, do Laboratório de Análises Clínicas Dr<sup>a</sup> Isabel Paquim Cerejeira, Go-Saúde, pela disponibilidade e compreensão demonstradas durante estes últimos dois anos, assim como às minhas colegas de trabalho.

Agradeço também a todas as outras pessoas presentes durante o meu percurso académico neste ciclo de estudos desde Professores a colegas.

E por fim, um agradecimento especial aos meus amigos e família que me incentivaram e apoiaram para concluir mais uma etapa da minha formação.

## Resumo

O hemograma é utilizado como auxiliar no rastreio, diagnóstico e monitorização de diferentes patologias, e inclui a quantificação e avaliação morfológica das células sanguíneas. Para a execução do hemograma existem diferentes tipos de contadores globulares automáticos, que diferem no sistema de contagem celular e na capacidade de avaliar os diferentes parâmetros hematológicos. Os contadores apresentam como principais metodologias, o método ótico e o de impedância. Como contadores de referência para análise dos diferentes parâmetros reportáveis foram escolhidos três, o Sysmex XE-5000 (Sysmex, Kobe, Japão), o Advia 120 (Siemens, Berlim e Munique, Alemanha) e o Coulter LH750 (Beckman, Brea, Califórnia). Para estes foram revistos os parâmetros reportáveis correspondentes às três linhagens celulares, eritrócitos, plaquetas e leucócitos, o seu significado clínico, importância e interferências nos respetivos resultados. 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.

**Palavras-chave:** Hemograma; Parâmetros reportáveis; Sysmex XE-5000; Advia 120; Coulter LH750

## Abstract

The cell blood count (CBC) is used as an important tool in screening, diagnosis and monitoring of several diseases, and includes the quantification and morphological evaluation of blood cells. To execute the CBC there are different types of automatic globular counters which differ in the cell counting system and the ability to evaluate various hematological parameters. The counters have as the main methodologies the optical method and the impedance method. As reference counters to analyze the different reportable parameters were chosen three, the Sysmex XE-500 (Sysmex, Kobe, Japan), the Advia 120 (Siemens, Berlin and Munich, Germany) and the Coulter LH750 (Beckman, Brea, California). For these counters had been reviewed the reportable parameters for the three cell types, erythrocytes, platelets and leukocytes, as their clinical significance, importance and possible interferences on their results. The automatic counters are increasingly technologically evolved with the ability to evaluate an increasing number of parameters which are of great importance to assist the diagnosis and therapeutic monitoring.

**Key words:** Cell blood count (CBC); reportable parameters; Sysmex XE-5000; Advia 120; Coulter LH750

## Índice

	Página
AGRADECIMENTOS .....	III
RESUMO .....	IV
ABSTRACT .....	IV
ÍNDICE .....	V
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VI
ÍNDICE DE TABELAS .....	VII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VIII
CONTAGEM GLOBULAR AUTOMÁTICA.....	1
MÉTODO ÓTICO – FUNDAMENTO .....	3
SISTEMA DE IMPEDÂNCIA – FUNDAMENTO .....	4
TIPOS DE CONTADOR E TECNOLOGIA UTILIZADA.....	5
SYSMEX XE-5000 .....	5
ADVIA 120 .....	10
COULTER LH 750.....	13
CALIBRAÇÃO E CONTROLO DE QUALIDADE .....	16
PARÂMETROS AVALIADOS PELOS CONTADORES AUTOMÁTICOS E SEU SIGNIFICADO....	18
PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO ERITROCITÁRIA .....	18
INTERFERÊNCIAS NOS PARÂMETROS ERITROCITÁRIOS .....	25
PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO PLAQUETÁRIA .....	28
INTERFERÊNCIAS NOS PARÂMETROS PLAQUETÁRIOS .....	31
PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO LEUCOCITÁRIA.....	35
INTERFERÊNCIAS NOS PARÂMETROS LEUCOCITÁRIOS.....	38
CONCLUSÃO .....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41
RELATÓRIO DE ESTÁGIO.....	45
RELATÓRIO DE ESTÁGIO.....	45
INTRODUÇÃO .....	46
FASE PRÉ-ANALÍTICA.....	47
FASE ANALÍTICA .....	49
SETOR DA HEMATOLOGIA.....	49
SETOR DA IMUNOLOGIA/VIROLOGIA .....	53
SETOR DA QUÍMICA CLÍNICA .....	55
FASE PÓS-ANALÍTICA.....	57
CONCLUSÃO .....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	59

## Índice de Figuras

	Página
Figura 1- Exemplo de equipamento automático em que estão representados as diferentes formas de processar a amostra.....	2
Figura 2- Exemplo de esfregaço de sangue periférico de uma anemia falciforme, em que são visíveis alterações morfológicas dos RBC, que não seriam detetadas no equipamento automático.....	3
Figura 3- Esquema representativo da tecnologia de citometria de fluxo incorporada num contador hematológico automático.....	4
Figura 4- Esquema representativo dos tipos de detetores utilizados na tecnologia de citometria de fluxo incorporada em contadores hematológicos automáticos.....	4
Figura 5- Esquema representativo do sistema de impedância elétrica que tem como base o princípio de "Coulter".....	5
Figura 6- Contador automático Sysmex XE-5000. ....	6
Figura 7- Exemplo do resultado dos parâmetros leucocitários fornecido pelo Sysmex XE-5000 .....	8
Figura 8- Exemplo de resultado dos parâmetros plaquetários fornecido pelo Sysmex XE-5000 .....	8
Figura 9- Exemplo de resultado dos parâmetros eritrocitários fornecido pelo Sysmex XE-5000, para a linhagem eritrocitária. ....	9
Figura 10- Esquema da tecnologia UFC utilizada pelo equipamento Advia 120	10
Figura 11- Exemplo de resultado de um hemograma fornecido pelo autoanalisador Advia 120 (parte 1).....	12
Figura 12- Exemplo de resultado de um hemograma fornecido pelo analisador Advia 120 (parte 2) .....	12
Figura 13- Imagem do contador automático Coulter LH 750 .....	13
Figura 14- Esquema representativo da tecnologia VCS. Primeira imagem representa a determinação do volume, a segunda a condutividade, a terceira a dispersão da radiação, e a última é a combinação das três anteriores, ou seja o VCS.....	13
Figura 15- Exemplo de resultado de uma análise fornecido pelo aparelho Coulter LH750. ....	15
Figura 16- Esquema representativo das diferentes etapas da eritropoiese.....	18

Figura 17-	Exemplo de alterações morfológicas no esfregaço sangue periférico compatível com a presença de uma anemia microcítica e hipocrômica.....	20
Figura 18-	Esfregaço de sangue periférico com reticulócitos corados com coloração supravital.....	23
Figura 19-	Esfregaço de sangue periférico com presença de eritroblastos. ....	25
Figura 20-	Esfregaço de sangue periférico, onde se observam PLT e RBC.....	28
Figura 21-	Esfregaço se sangue periférico onde se podem observar PLT gigantes.....	30
Figura 22-	Esfregaço de sangue periférico onde podem ser observados agregados plaquetários .....	31
Figura 23-	Esfregaço de sangue periférico onde se pode observar a presença de satelitismo plaquetário .....	32
Figura 24-	Esfregaço de sangue periférico onde podem ser observados os diferentes tipos de WBC.....	35
Figura 25-	Exemplo de um citograma obtido no autoanalisador ADVIA 120 no canal dos Basófilos.....	37

## Índice de tabelas

	Página
Tabela I- Parâmetros de avaliados pelo aparelho automático Sysmex XE-5000.....	7
Tabela II- Parâmetros avaliados pelo autoanalisador Advia 120.....	11
Tabela III- Parâmetros avaliados no Coulter LH750.....	14
Tabela IV- Causas das anemias.....	18
Tabela V- Classificação das anemias de acordo com os índices eritrocitários	21
Tabela VI- Parâmetros de avaliação eritrocitária fornecidos pelos três analisadores.....	21
Tabela VII- Possíveis interferências na contagem eritrocitária.....	25
Tabela VIII- Parâmetros de avaliação plaquetária fornecidos pelos três analisadores.....	29
Tabela IX- Possíveis interferências na contagem plaquetária.....	31
Tabela X- Parâmetros de avaliação leucocitária fornecidos pelos três analisadores.....	36
Tabela XI- Possíveis interferências na contagem leucocitária.....	38

## Lista de Abreviaturas

ABN – “abnormal”

ADMTS13 - metaloprotease plasmática clivadora do fator de Von Willebrand

BASO – basófilos

Blasts – blastos

CQ – controlo de qualidade

DNA – ácido desoxiribonucleico

EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético

EOS – eosinófilos

FS – “forward scatter”

Hb – hemoglobina

Hct – hematócrito

HDW – “hemoglobin distribution width”

HLR – reticulócitos de elevada dispersão

HPC – células progenitoras hematopoiéticas

HYPHER – hiper Cromia

HYPH – hipocromia

IG – granulócitos imaturos

IPF – fração de plaquetas imaturas

IRF – fração de reticulócitos imaturos

LFL – “lateral fluorescence light”

LPLT – plaquetas gigantes

LS – “lateral scatter”

LUC – “large unstained cells”

LYMPH – linfócitos

MACRO – macrocitose

MCH – hemoglobina corpuscular média

MCHr – hemoglobina corpuscular média dos reticulócitos

MCHC – concentração de hemoglobina corpuscular média

MCHCr – concentração de hemoglobina corpuscular média dos reticulócitos

MCV – volume corpuscular médio

MCVr – volume corpuscular médio dos reticulócitos

MICRO – microcitose

MN – mononucleares

MO – medula óssea

MONO – monócitos

MRV – volume médio dos reticulócitos  
MSCV – volume celular esférico médio  
NEUT – neutrófilos  
NRBC – eritroblastos  
PCT – plaquetócrito  
PDW – “platelet distribution width”  
PLT – plaquetas  
PLT-O – plaquetas óticas  
PMN – polimorfonucleares  
PTI – púrpura trombocitopénica idiopática  
PTT – púrpura trombocitopénica trombótica  
RBC – eritrócitos  
RDW – “red cell distribution width”  
RET – reticulócitos  
RNA – ácido ribonucleic  
SDS – “sodium dodecyl sulfate”  
SLS – lauril sulfato de sódio  
UFC – “unfield fluids circuit”  
UKNEQAS – “United Kingdom National External Quality Assessment Service”  
VCS – “volume, high frequency conductivity, scatter”  
MPV – volume plaquetário médio  
WBC – leucócitos  
WBCP – leucócitos no canal peroxidase

## Contagem globular automática

O hemograma é utilizado como auxiliar no rastreio, diagnóstico e monitorização de diferentes patologias, fornecendo informações qualitativas e quantitativas sobre o estado hematológico de um indivíduo. O hemograma inclui a quantificação e a avaliação morfológica das células sanguíneas (eritrócitos, leucócitos e plaquetas).<sup>(1, 2)</sup>

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.<sup>(1, 3, 4)</sup>

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).<sup>(5)</sup> 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.<sup>(2)</sup> 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).<sup>(2)</sup> Permitem, ainda, o processamento de amostras (exemplo na Figura 1) 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)<sup>(5)</sup>.

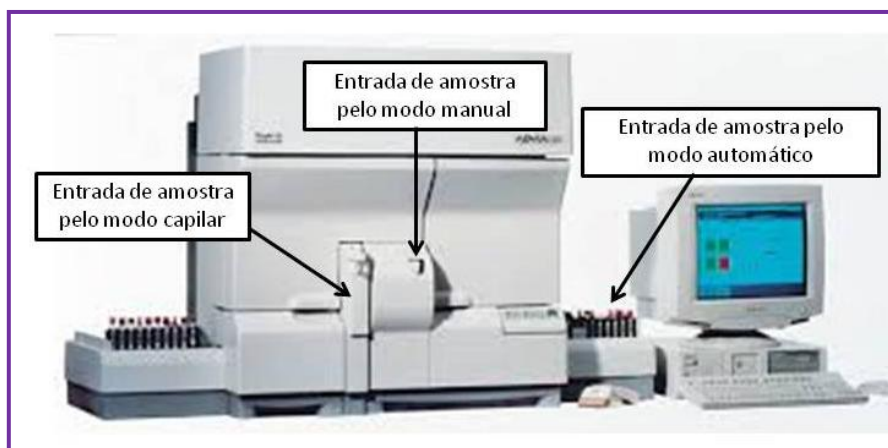


Figura 1 – Exemplo de equipamento automático em que estão representadas as diferentes formas de processar a amostra.

Adaptado de: <http://ruvel.angelfire.com/hematologia.htm>

Os contadores apresentam um sistema de alertas para alterações morfológicas, alterações quantitativas e para a presença de células precursoras.

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 aspeto é muito importante para a validação e quantificação de alterações morfológicas e para identificação de células precursoras.<sup>(2, 6)</sup>

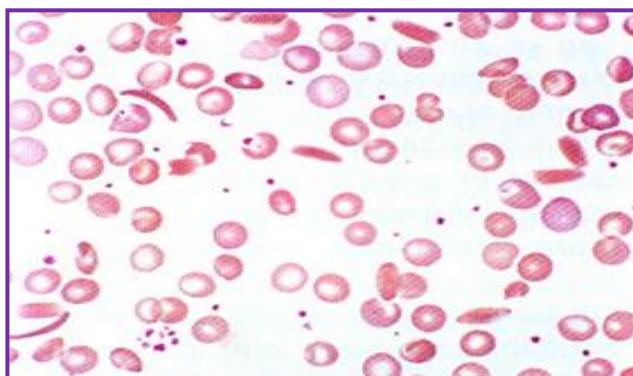
Com o decorrer do tempo houve uma evolução no sistema de alertas dos equipamentos, com inclusão de alertas para rejeição de amostras, nomeadamente para volume insuficiente e presença de coágulos.<sup>(6, 7)</sup>

Os contadores automáticos apresentam diversas vantagens, relativamente ao método manual, tais como:

- Maior segurança, com a análise das amostras em tubo fechado
- Maior reprodutibilidade, sem variabilidade inter-observador
- Maior precisão, resultante do elevado número de células contadas
- Possibilidade de avaliação de parâmetros não incluídos no hemograma, mas muito úteis na avaliação hematológica, com o mesmo volume de sangue
- Mais eficiente permitindo a realização de mais de 100 análises por hora <sup>(7)</sup>

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 globular automática forneça resultados ou indique alarmes que o justifiquem, deve ser realizada uma visualização microscópica do esfregaço de sangue (figura 2) 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.



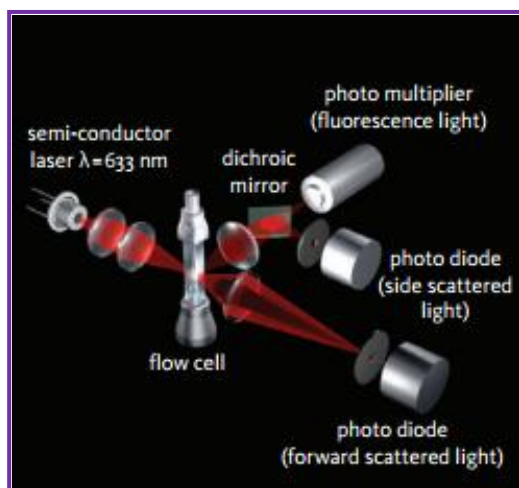
**Figura 2** - Exemplo de esfregaço de sangue periférico de uma anemia falciforme, em que são visíveis alterações morfológicas dos RBC, que não seriam detetadas no equipamento automático. Adaptado de: <http://www.hemoglobinopatias.com.br/d-falciforme/intro.htm>

Para a análise do hemograma os contadores automáticos apresentam duas metodologias principais, o método ótico e de impedância.<sup>(2)</sup>

### **Método ótico – fundamento**

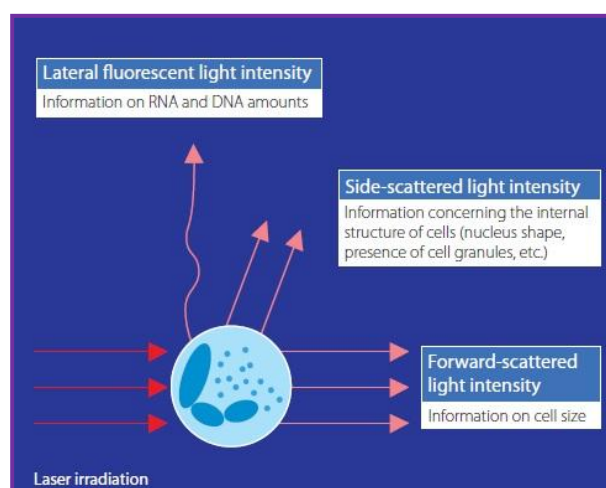
Os aparelhos que fazem a contagem celular pelo método ótico utilizam uma luz laser para análise e contagem das células por citometria de fluxo. Nestes contadores o sangue é aspirado e introduzido num fluxo contínuo, que faz com que as células se alinhem (uma a uma) no centro do fluxo, prevenindo desta 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  $90^\circ$  (figura 3). 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 (figura 4).<sup>(2, 4-6, 8-12)</sup>



**Figura 3** - Esquema representativo da tecnologia de citometria de fluxo incorporada num contador hematológico automático.

Adaptado de: <http://www.sysmex-europe.com/>



**Figura 4** - Esquema representativo dos tipos de detetores utilizados na tecnologia de citometria de fluxo incorporada em contadores hematológicos automáticos.

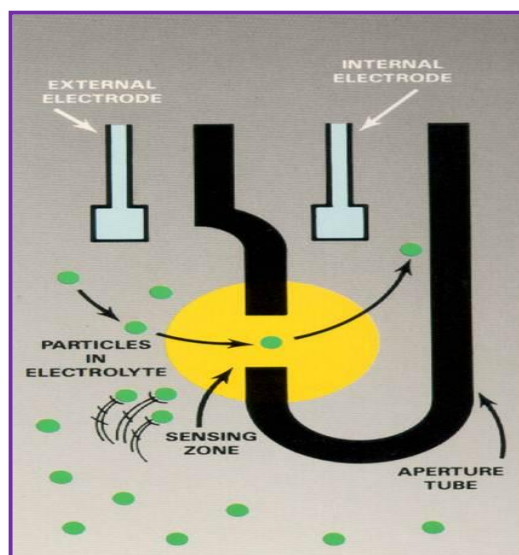
Adaptado de: <http://www.sysmex-europe.com/>

### 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 eléttodos. 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 eléttodos. Desta alteração da corrente gera-se um pulso elétrico proporcional ao volume da célula que lhe deu origem (figura 5). 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.<sup>(4-6, 9)</sup>

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.<sup>(2)</sup> A soma dos impulsos de todas as células num volume específico é avaliada com recurso a um histograma.<sup>(5)</sup> No caso dos RBC o

somatório dos pulsos fornece o valor de hematócrito e no caso das PLT, o valor do plaquetócrito.



**Figura 5-** Esquema representativo do sistema de impedância elétrica que tem como base o princípio de "Coulter".

Adaptado de: <http://www.cyto.purdue.edu/cdroms/cyto2/6/coulter/ss000103.htm>

### Tipos de contador e tecnologia utilizada.

Os contadores automáticos apresentam-se cada vez mais evoluídos, permitindo a análise de novos parâmetros hematológicos, que se têm revelado com elevado potencial de interesse clínico. Hoje em dia existem diversos contadores automáticos. Como contadores de referência para a elaboração deste trabalho foram escolhidos três, os referidos com maior frequência nos estudos realizados na área de hematologia, sendo estes o Sysmex XE-5000, da Sysmex (Kobe, Japão), o Advia 120, da Siemens (Berlim e Munique, Alemanha) e o Coulter LH-750, da Beckman (Brea, Califórnia).<sup>(13)</sup>

#### Sysmex XE-5000

O Sysmex XE-5000 (figura 6) utiliza a tecnologia de citometria de fluxo (por fluorescência) para a contagem de WBC, RET, PLT e NRBC, e o método de impedância para a contagem de RBC e PLT.

Os WBC são medidos num canal DIFF (contagem diferencial de WBC), em que um surfactante promove a lise dos RBC e permeabiliza as membranas dos WBC. Os WBC ficam com poros muito reduzidos na membrana, por onde entra um corante fluorescente (polimetina) que se liga ao ácido nucleico. São depois analisados por citometria de fluxo (com fluorescência), recorrendo aos detetores SS e LFL, em que a

intensidade de fluorescência do RNA e DNA do núcleo e dos organelos citoplasmáticos das células, e a análise da complexidade da estrutura celular, permitem fazer a diferenciação dos diferentes tipos de leucócitos.<sup>(9, 14-17)</sup>



**Figura 6** – Contador automático Sysmex XE-5000.

Adaptado: <http://msdiagnostica.com/Joomla/index.php/produtos?lang=>

No canal RET/PLT-O são contados os RET e as PLT (contagem ótica). Neste canal, da mesma forma, o surfactante lisa os RBC e permeabiliza as membranas das células permitindo a penetração do corante fluorescente, que se vai ligar ao ácido nucleico dos WBC, NRBC, RET e PLT. Com recurso aos detetores FS e LFL, são analisados os RET.<sup>(14, 15)</sup>

No canal IMI são detetadas seletivamente células imaturas de linhagem mieloide. Quando expostas ao reagente (“Stromatolyser – IM”) as membranas das células maduras são destruídas devido ao seu grande teor lipídico e os seus componentes eliminados. Como a membrana das células imaturas contém uma quantidade mais pequena de lípidos e uma grande concentração de ácidos gordos, nas suas membranas, apesar de também serem lesadas, o reagente penetra a célula fixando ambos (membrana celular e componentes intracelulares). Recorrendo ao método de impedância, o Sysmex consegue distinguir células blásticas, granulócitos imaturos (mielócitos, metamielócitos, pró-mielócitos e células em banda).<sup>(14, 15)</sup>

No canal de NRBC, os RBC e NRBC são lisados por um surfactante (“Stromatolyser – NR”) expondo o núcleo dos NRBC. As membranas dos WBC são permeabilizadas, permitindo a entrada do corante fluorescente (polimetina) que migra e se liga aos ácidos nucleicos e organelos celulares. No caso dos NRBC apenas fica marcado o ácido nucleico, uma vez que após a lise se perdem os seus componentes celulares. O resultado desta análise serão duas populações distintas, que diferem na intensidade de fluorescência (WBC com maior fluorescência que os NRBC). Este canal permite a correção automática da contagem de WBC na presença de NRBC.<sup>(5, 14, 15)</sup>

Na tabela I estão apresentados os diferentes parâmetros determinados no Sysmex XE-5000.<sup>(12, 14, 16, 17)</sup>

Tabela I - Parâmetros avaliados pelo contador hematológico Sysmex Xe-5000.

Parâmetro	Designação (Unidades)
<b>RBC</b>	Eritrócitos (nº/L)
<b>PLT</b>	Plaquetas (nº/L)
<b>Hb</b>	Hemoglobina (g/dL)
<b>Hct</b>	Hematócrito (%)
<b>MCV</b>	Volume corpuscular médio (fL)
<b>MCHC</b>	Concentração de Hb corpuscular média (g/dL)
<b>MCH</b>	Hb corpuscular média (pg)
<b>WBC</b>	Leucócitos (nº/L)
<b>%Neut e #Neut</b>	Neutrófilos (% e valor absoluto)
<b>%Mono e #Mono</b>	Monócitos (% e valor absoluto)
<b>%Lymph e #Lymph</b>	Linfócitos (% e valor absoluto)
<b>%Eos e #Eos</b>	Eosinófilos (% e valor absoluto)
<b>% Baso e #Baso</b>	Basófilos (% e valor absoluto)
<b>%IG e #IG</b>	Granulócitos Imaturos (% e valor absoluto)
<b>RDW</b>	“Red cell distribution width” (grau anisocitose)
<b>HDW</b>	“Hemoglobin distribution width” (grau anisocromia)
<b>MPV</b>	Volume médio plaquetário
<b>IRF</b>	Fração de reticulócitos imaturos
<b>IPF</b>	Fração de plaquetas imaturas
<b>%NRBC e #NRBC</b>	Eritroblastos (% e valor absoluto)
<b>PLT-O</b>	Plaquetas contadas pelo método ótico
<b>%Retic e #Retic</b>	Reticulócitos (% e valor absoluto)
<b>Retic-He</b>	Hb dos reticulócitos
<b>HPC</b>	Células progenitoras hematopoiéticas
<b>%Hypo</b>	% Células hipocrômicas
<b>%Hyper</b>	% Células hiperocrômicas
<b>%Macro</b>	% Células macrocíticas
<b>%Micro</b>	% Células microcíticas

As figuras 7,8 e 9 exemplificam o resultado de um hemograma de uma amostra de sangue analisado no aparelho Sysmex XE-5000. Na figura 7 está apenas representado o resultado para a contagem de WBC e respetivos parâmetros. Verifica-se no exemplo que a contagem de WBC está aumentada (leucocitose) devido a neutrofilia (aumento dos NEUT) e monocitose (aumento dos MONO). Estão presentes alguns granulócitos imaturos (IG), o que poderá estar relacionado com um ligeiro aumento da atividade da medula óssea, em resposta a uma possível infeção vírica. Os alertas produzidos pelo equipamento chamam à atenção para estas alterações, que deverão ser avaliadas por observação microscópica do esfregaço sanguíneo.

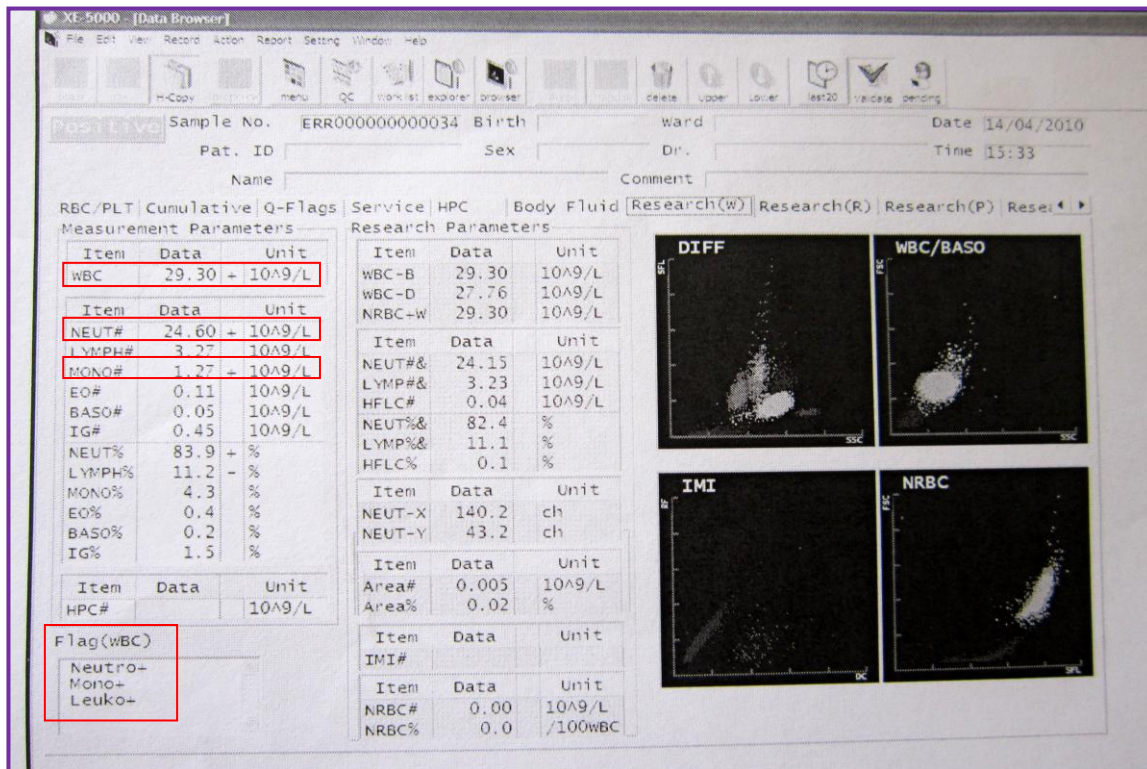


Figura 7 - Exemplo do resultado dos parâmetros leucocitários fornecido pelo Sysmex XE-5000 .

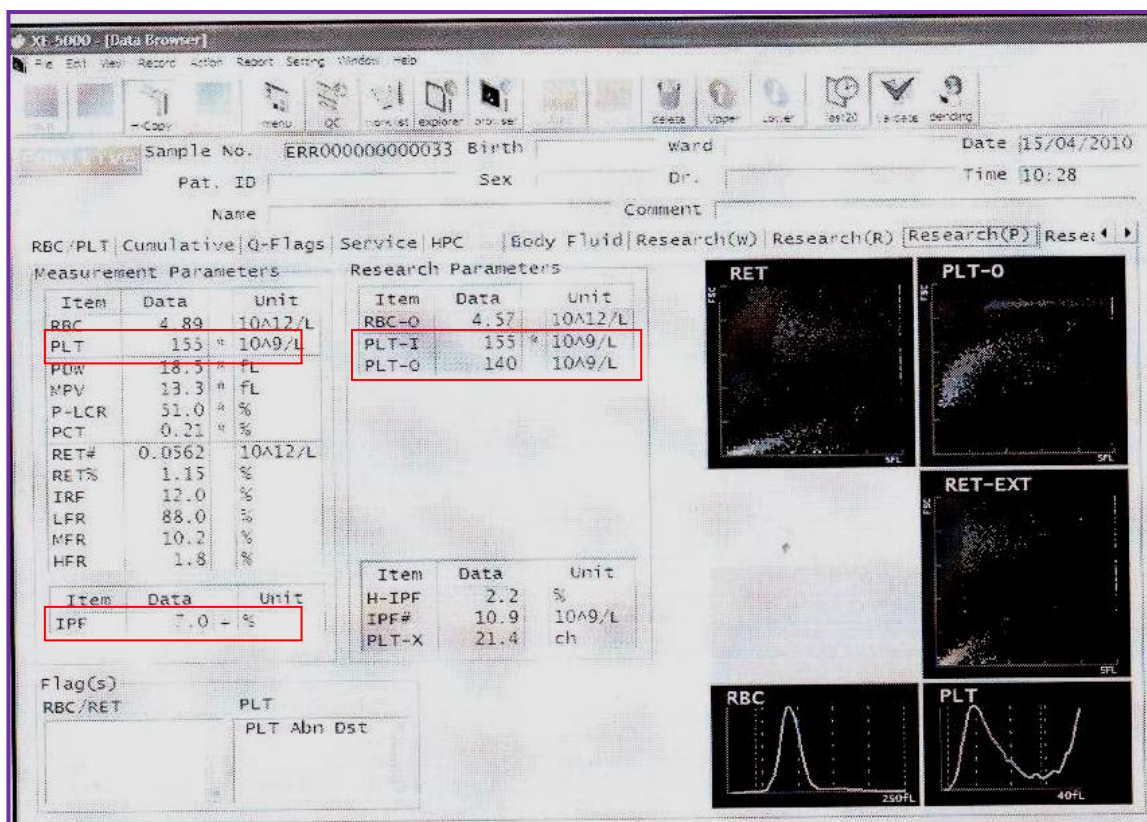


Figura 8 - Exemplo de resultado dos parâmetros plaquetários fornecido pelo Sysmex XE-5000

Na figura 8 está representado o resultado da análise dos parâmetros plaquetários, onde se pode observar uma contagem de plaquetas (PLT =  $155 \times 10^9/L$ ) está baixa. O valor de IPF (7.0%), correspondente às PLT imaturas em circulação está aumentado, sendo indicativo de uma atividade aumentada da medula óssea (MO), como resposta à diminuição do valor plaquetas. Também é possível observar que o valor da contagem de PLT por impedância (PLT-I com  $155 \times 10^9/L$ ) e na contagem ótica (PLT-O com  $140 \times 10^9/L$ ) é bastante semelhante. Os alertas sinalizam uma distribuição anormal do volume das PLT, que é devido à presença de PLT imaturas (IPF) numa população diminuída (PLT baixas) de plaquetas.

A figura 9 representa os resultados da avaliação dos parâmetros eritrocitários no Sysmex XE-5000. Os resultados apresentados têm valores dentro dos limites de referência de Hb, MCV, MCHC, não existindo variações significativas, nem alertas a considerar.

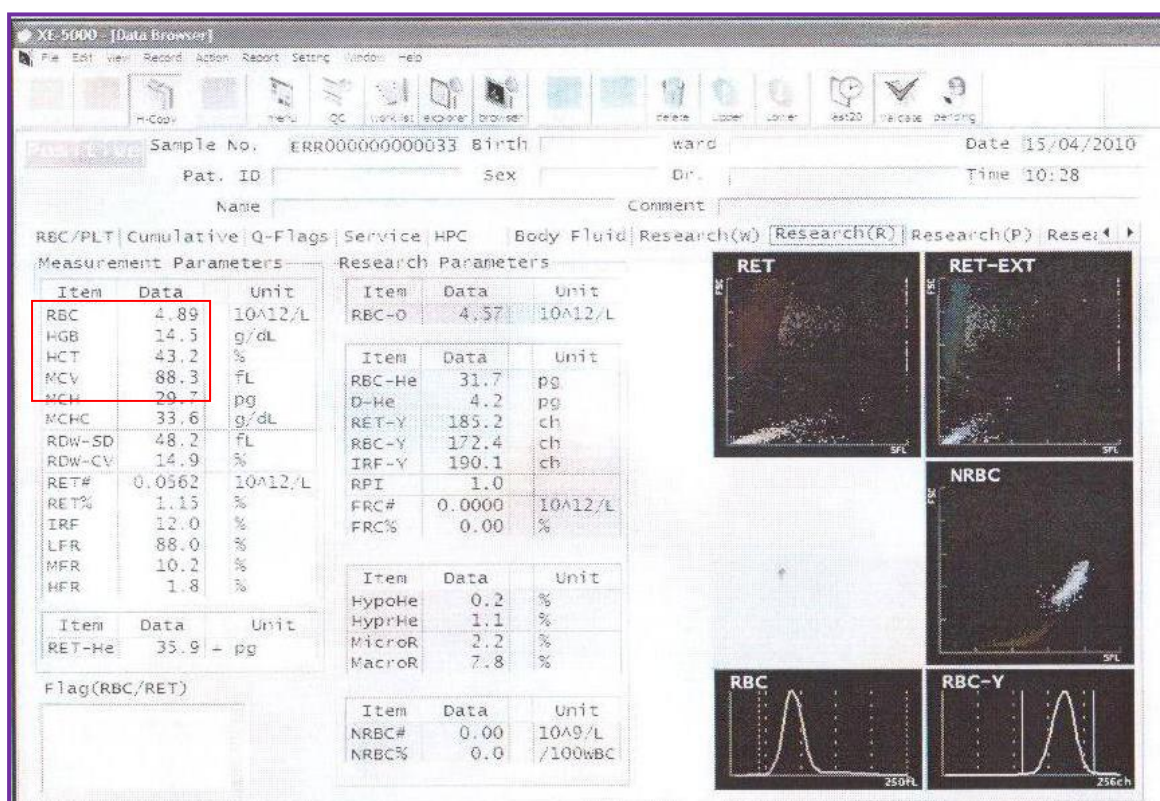


Figura 9 - Exemplo de resultado dos parâmetros eritrocitários fornecido pelo Sysmex XE-5000.

## Advia 120

O autoanalisador Advia 120, utiliza o método ótico para todas as determinações. O aparelho funciona com uma tecnologia designada de UFC (“Unified Fluids Circuit”), que é um circuito fechado com válvulas e bomba de fluídos, em que a junção de várias placas acrílicas origina diferentes câmaras/canais onde ocorrem as reações para análise das amostras (Figura 10).

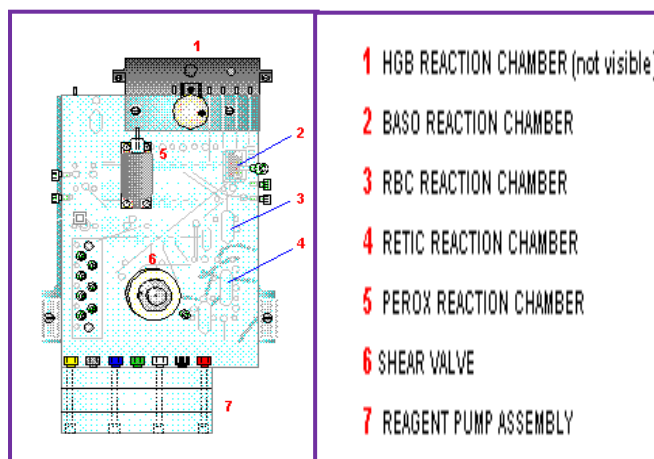


Figura 10 - Esquema da tecnologia UFC utilizada pelo equipamento Advia 120. Adaptado de: [http://www.slidefinder.net/a/advia120\\_ismerteto/32871029](http://www.slidefinder.net/a/advia120_ismerteto/32871029)

No canal RBC/PLT, um reagente (SDS – “sodium dodecyl sulfate” com glutaraldeído) torna os eritrócitos e plaquetas esféricos. Ao tornar todas as células esféricas, a forma deixa de ser uma variável a ter em conta e apenas é importante a medição do volume para distinguir estas duas populações celulares (eritrócitos e plaquetas).

Os reticulócitos são contados no canal RET, onde um reagente torna os RBC esféricos e cora (corante catiónico de oxazina) as células de acordo com o seu conteúdo em RNA.

No canal PEROX um surfactante, em combinação com “stress” térmico, lisa os RBC; os WBC com atividade peroxidase são corados com um reagente que serve de substrato ao peróxido de hidrogénio, formando um precipitado negro, nas granulações dos neutrófilos, eosinófilos e monócitos. O conteúdo de peroxidase das células é avaliado pela absorvância (valor diretamente proporcional), sendo que os eosinófilos são os que apresentam maior atividade de peroxidase e os monócitos a menor. Neste canal é também possível detetar, com base no seu conteúdo em peroxidase, a presença de pró-mielócitos, mielócitos, metamielócitos e células em banda.

No canal BASO ocorre a lise dos eritrócitos e dos leucócitos, exceto dos basófilos (resistentes ao surfactante), permitindo desta forma contar os basófilos.<sup>(5, 18)</sup>

O equipamento Advia 120 possibilita a determinação de vários parâmetros hematológicos, que são indicados na tabela II.

**Tabela II** – Parâmetros avaliados no autoanalisador Advia 120.

Parâmetro	Designação (Unidades)
<b>RBC</b>	Eritrócitos (nº/L)
<b>PLT</b>	Plaquetas (nº/L)
<b>Hb</b>	Hemoglobina (g/dL)
<b>Hct</b>	Hematócrito (%)
<b>MCV</b>	Volume corpuscular médio (fL)
<b>MCHC</b>	Concentração de Hb corpuscular média (g/dL)
<b>MCH</b>	Hb corpuscular média (pg)
<b>WBC</b>	Leucócitos (nº/L)
<b>%Neut e #Neut</b>	Neutrófilos (% e valor absoluto)
<b>%Mono e #Mono</b>	Monócitos (% e valor absoluto)
<b>%Lymph e #Lymph</b>	Linfócitos (% e valor absoluto)
<b>%Eos e #Eos</b>	Eosinófilos (% e valor absoluto)
<b>% Baso e #Baso</b>	Basófilos (% e valor absoluto)
<b>WBCP</b>	WBC no canal peroxidase
<b>RDW</b>	“Red cell distribution width” (grau anisocitose)
<b>HDW</b>	“Hemoglobina distribution width” (grau anisocromia)
<b>MPV</b>	Volume médio plaquetário
<b>IRF</b>	Fração de reticulócitos imaturos
<b>LPLT</b>	Plaquetas gigantes
<b>%Retic e #Retic</b>	Reticulócitos (% e valor absoluto)
<b>%LUC e #LUC</b>	“Large unstained cells” (% e valor absoluto)
<b>MCVr</b>	MCV dos reticulócitos
<b>MCHr</b>	MCH dos reticulócitos
<b>MCHCr</b>	MCHC dos reticulócitos
<b>%Hypo</b>	% Células hipocrômicas
<b>%Hyper</b>	% Células hiperocrômicas
<b>%Macro</b>	% Células macrocíticas
<b>%Micro</b>	% Células microcíticas
<b>%Basts e #Blasts</b>	Blastos (% e valor absoluto)
<b>%MN</b>	% mononucleares
<b>%PMN</b>	% polimorfonucleares
<b>LI</b>	Índice de lobularidade

Nas figuras 11 e 12 é apresentado um exemplo de um resultado fornecido pelo aparelho Advia 120. Pela análise da figura 11 podemos verificar que o valor de Hb é inferior ao valor de referência, assim como alguns índices eritrocitários (MCV e MCH). Na figura 12 verifica-se a presença de células microcíticas e hipocrômicas, resultado concordante com os valores de MCV e MCH apresentados acima. Estes resultados sugerem a presença de uma anemia microcítica hipocrômica.

Na figura 11 está ainda assinalada a presença de LUC, pelo que se deve proceder à visualização do esfregaço sanguíneo para pesquisa de células blásticas, linfócitos atípicos ou plasmócitos.

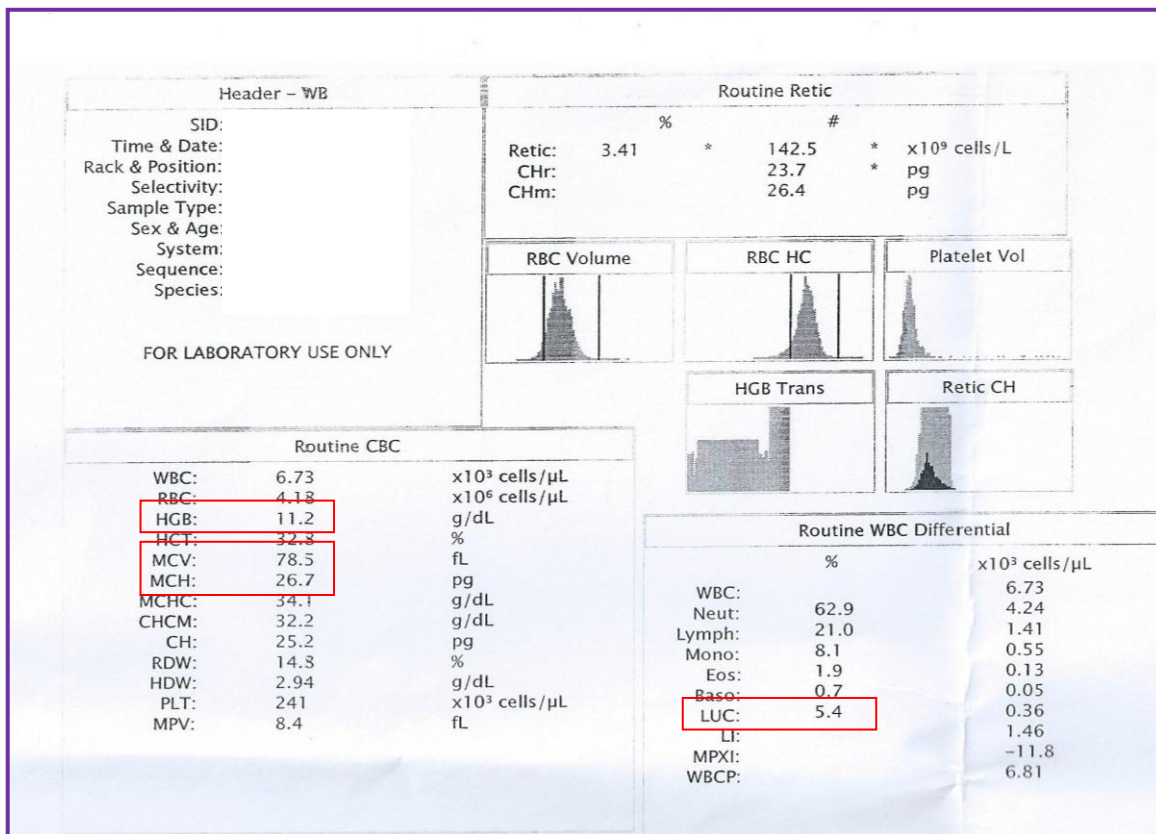


Figura 11 - Exemplo de resultado de um hemograma fornecido pelo autoanalisador Advia 120 (parte 1)

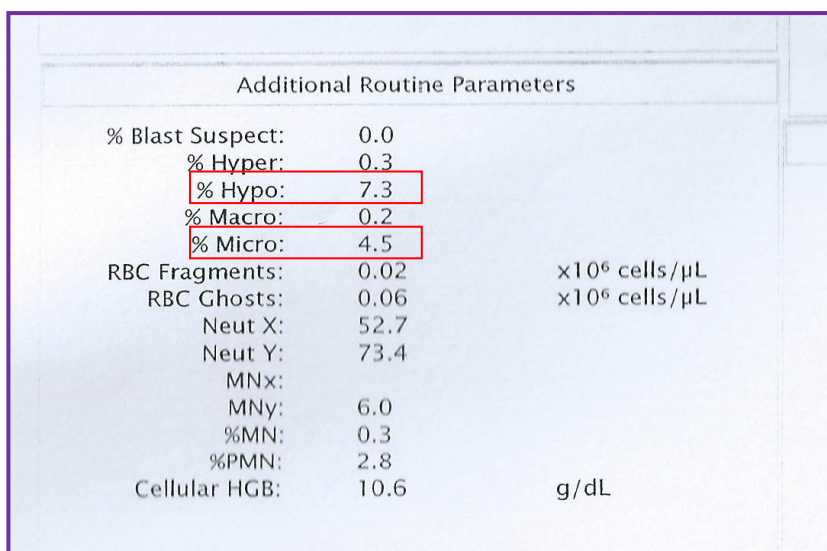


Figura 12 - Exemplo de resultado de um hemograma fornecido pelo analisador Advia 120 (parte 2)

## Coulter LH 750

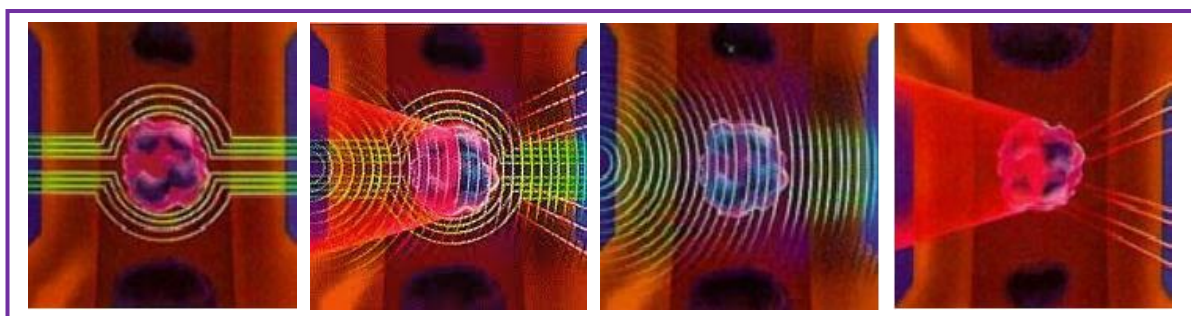
Relativamente ao aparelho da Beckman, o Coulter LH 750 utiliza a impedância para a contagem celular (eritrócitos, leucócitos e plaquetas) e uma tecnologia designada por VCS (“volume, high frequency conductivity, scatter”) que permite a diferenciação dos leucócitos e a contagem de reticulócitos. Esta tecnologia permite diferenciar linfócitos, monócitos, eosinófilos, neutrófilos, basófilos e reticulócitos com base no volume da célula, na sua condutividade, estrutura e forma (VCS).<sup>(5, 19)</sup>



**Figura 13-** Imagem do contador automático Coulter LH 750. Adaptado de: <https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/wsr/diagnostics/clinical-products/hematology/coulter-lh-750-hematology-analyzer/index.htm>

No Coulter LH 750 (figura 13) os parâmetros (RBC, WBC e PLT) são determinados usando a tecnologia “AccuCount” que combina a impedância (princípio de Coulter) com algoritmos matemáticos. Esta tecnologia permite que as contagens sejam automaticamente corrigidas, como é o caso da contagem de WBC na presença de NRBC, no caso da presença de PLT gigantes, agregados plaquetários, RBC não lisados ou fragmentos de RBC. A contagem de NRBC é parte integrante da contagem diferencial, tendo assim o Coulter LH 750 um canal 6-part Diff (os outros dois aparelhos apresentam 5-diff) em que é aplicada a tecnologia VCS (figura 14).<sup>(19)</sup>

Este equipamento permite a análise de uma série de parâmetros especificados na tabela III. Na figura 15 está representado um exemplo de um resultado fornecido por este contador hematológico automático.



**Figura 14 -** Esquema representativo da tecnologia VCS. Primeira imagem representa a determinação do volume, a segunda a condutividade, a terceira a dispersão da radiação, e a última é a combinação das três anteriores, ou seja o VCS. Adaptado de: Coulter 3-D VCS Technology. Available from: <https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/bibliography?docname=ss0000125.pdf>.

Tabela III - Parâmetros avaliados pelo autoanalisador Coulter LH 750.

Parâmetro	Designação (Unidades)
<b>RBC</b>	Eritrócitos (nº/L)
<b>PLT</b>	Plaquetas (nº/L)
<b>Hb</b>	Hemoglobina (g/dL)
<b>Hct</b>	Hematócrito (%)
<b>MCV</b>	Volume corpuscular médio (fL)
<b>MCHC</b>	Concentração de Hb corpuscular média (g/dL)
<b>MCH</b>	Hb corpuscular média (pg)
<b>WBC</b>	Leucócitos (nº/L)
<b>%Neut e #Neut</b>	Neutrófilos (% e valor absoluto)
<b>%Mono e #Mono</b>	Monócitos (% e valor absoluto)
<b>%Lymph e #Lymph</b>	Linfócitos (% e valor absoluto)
<b>%Eos e #Eos</b>	Eosinófilos (% e valor absoluto)
<b>% Baso e #Baso</b>	Basófilos (% e valor absoluto)
<b>MPV</b>	Volume plaquetário médio
<b>RDW</b>	“Red cell distribution width” (grau anisocitose)
<b>%NRBC e #NRBC</b>	Eritroblastos (% e valor absoluto)
<b>%RET e #RET</b>	Reticulócitos (% e valor absoluto)
<b>%HLR e #HLR</b>	Reticulócitos com elevada dispersão (% e valor absoluto)
<b>IRF</b>	Fração de reticulócitos imaturos
<b>MRV</b>	Volume médio dos reticulócitos
<b>MSCV</b>	Volume celular esférico médio
<b>PDW</b>	“Platelet distribution width” (anisocitose plaquetária)
<b>Pct</b>	Plaquetócrito

Na figura 15 está representado um exemplo de um resultado de um hemograma fornecido pelo aparelho Coulter LH 750. No painel é possível observar alterações ao nível das três linhagens celulares. A contagem de WBC está aumentada (leucocitose com neutrofilia e monocitose), o valor de Hb está diminuído (anemia) e o valor de PLT está muito baixo (trombocitopenia). Os alertas do equipamento sugerem como principal achado a presença de agregados plaquetários (“PLT clumps”). O histograma das PLT também apresenta alterações. Neste caso, seria importante a visualização do esfregaço sanguíneo para avaliar a presença ou não de agregados plaquetários que justificassem a diminuição das PLT e possivelmente o aumento dos WBC. No caso de se confirmar a presença de agregados, seria necessário a realização de nova colheita de sangue, para tubo de citrato de sódio (sem centrifugar) para nova contagem celular, de modo a prevenir a formação de agregados plaquetários induzidos pelo EDTA.

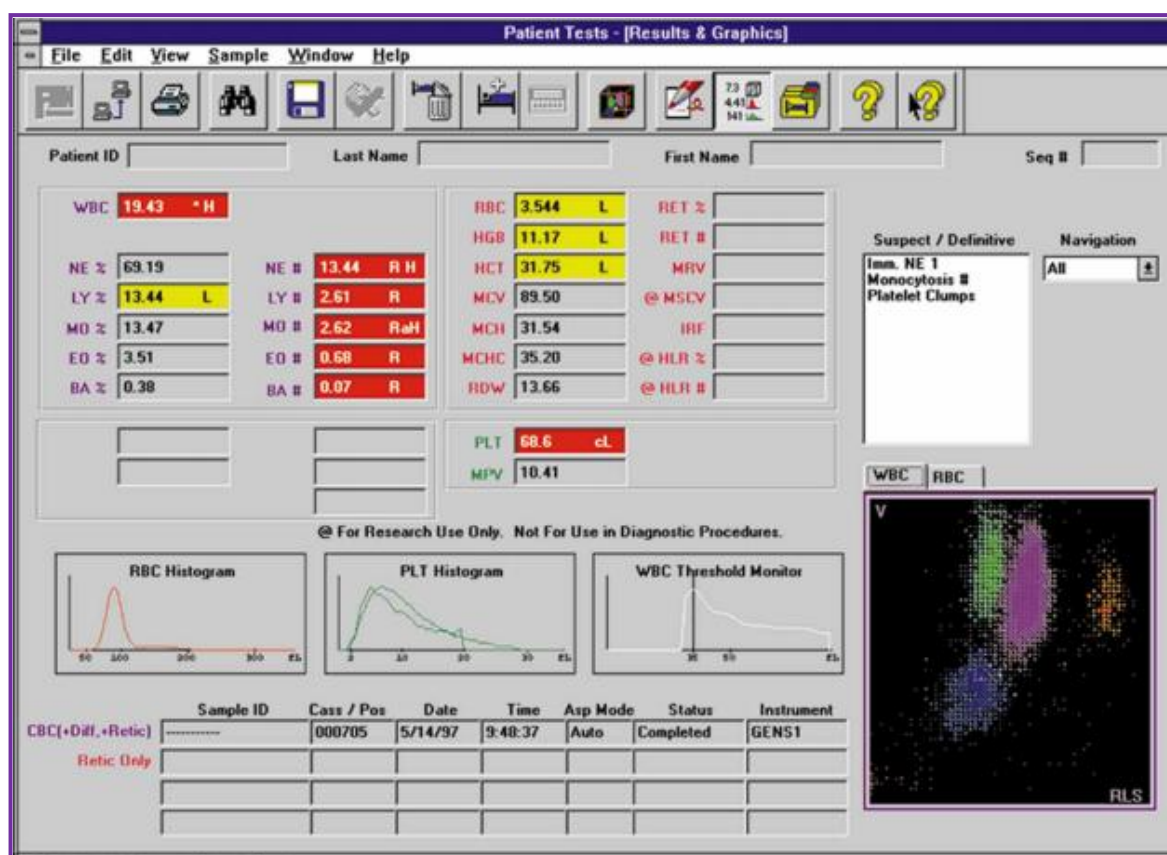


Figura 15 - Exemplo de resultado de uma análise fornecido pelo aparelho Coulter LH 750.

Para além dos parâmetros analisados estes contadores automáticos apresentam um sistema de alarmes, que chamam a atenção do analista para a presença de alterações. Cada equipamento apresenta as suas especificações e alertas, que podem incluir:

- Alertas gerados pelo Sysmex XE-5000

“PLT clumps”; “PLT ABN distribution”; “WBC ABN scattergram”; “Blasts”; “left shift”; “atypical lymphocytes”; “abnormal lymphocytes/blasts”; “RBC ABN distribution”; “RBC lyse resistance”; “RBC agglutinins”; “turbidity”.

- Alertas gerados pelo Advia 120

“left shift”; “atyp”; “blasts”; “immature grans”; “myeloperoxidase deficiency”; “aniso”; “micro”; “macro”; “Hb variation”; “hypo”; “hyper”; “NRBC”; “RBC fragments”; “RBC ghost”; “large PLT”; “PLT clumps”.

- Alertas gerados pelo Coulter LH750

“user-definable age”; “gender”; “location-based reference intervals”; “action and critical limits”; “user – definable RBC morphology”; “gradient messages (+,++,+++); “user – selectable sensivity for differential abnormal population suspected messages”.

Os resultados fornecidos pelos aparelhos têm que ser avaliados tendo em conta os resultados e os alertas por eles fornecidos.

Os parâmetros apresentados para os três aparelhos referem-se apenas aos parâmetros reportáveis, ou seja, cada um dos aparelhos consegue determinar um maior número de parâmetros para além dos apresentados. No entanto, esses parâmetros, ainda são considerados pelas respetivas marcas como parâmetros de investigação que não devem ser usados na prática clínica.

### Calibração e controlo de qualidade

O controlo de qualidade (CQ) em laboratórios visa obter resultados corretos e precisos para diagnóstico e terapêutica. Permite avaliar a precisão, exatidão e reprodutibilidade dos métodos analíticos, sendo, por isso, uma ação sistemática necessária para dar idoneidade e confiança aos serviços prestados por um laboratório de análises clínicas.<sup>(20-22)</sup>

O CQ num laboratório tem que ter em vista as três fases de análise de uma amostra, fase pré-analítica, analítica e pós-analítica, pois a qualidade começa e termina no doente.

Nos laboratórios de hematologia o CQ, como em todos os outros setores laboratoriais, deve incluir um programa interno e externo. O controlo de qualidade interno, é o controlo intralaboratorial, engloba a análise diária de amostras controlo, com valores conhecidos, para avaliar a precisão dos ensaios. Permite garantir a reprodutibilidade, verificar a calibração dos sistemas analíticos, indicando, portanto, quando é necessário promover medidas corretivas, ou seja, quando surge uma não conformidade. Cada laboratório deve ter o seu próprio sistema de controlo de qualidade interno, para uma melhoria contínua.<sup>(20-22)</sup>

São recomendados três níveis de controlo interno das amostras controlo (alto, normal e baixo). Quando os resultados dos controlos ficam fora dos valores de referência surgem alarmes. As cartas de Levey-Jennings usam-se para avaliar a exatidão e precisão. Os controlos são usados habitualmente para monitorizar o desempenho do sistema de testes, mas também quando se troca de reagente, quando há manutenção do aparelho ou problemas com o mesmo. A manutenção de rotina do equipamento é importante para assegurar o correto funcionamento do mesmo, sendo por isso importante a sua limpeza e verificação de todos os componentes. Cada aparelho tem as suas especificações para a manutenção semanal/mensal preventiva.

O controlo de qualidade externo é o controlo interlaboratorial, que compara a exatidão dos resultados analíticos. Habitualmente os laboratórios participam num programa que oferece uma avaliação do desempenho geral do laboratório quando em comparação com outros participantes. Uma amostra é enviada por uma entidade

acreditada (p.e UK NEQAS), para todos os laboratórios participantes, que processam a amostra e enviam os resultados para a entidade responsável. Os resultados são então comparados entre si e cada laboratório recebe um relatório com os resultados finais. O resultado é dado como “Bom”, “Aceitável” ou “Inaceitável”. As avaliações obtidas nos programas de controlo de qualidade externo são importantes para implementar o sistema de controlo interno.<sup>(20-22)</sup>

As amostras enviadas para os laboratórios são de uma matriz adequada e específica para cada aparelho inscrito no programa, ou seja, uma matriz para um Coulter não poderá ser utilizada num aparelho da Sysmex.<sup>(22)</sup>

A automatização em hematologia reduziu o custo e o tempo para determinação do hemograma, e aumentou a precisão dos resultados obtidos.<sup>(21)</sup>

A calibração é um conjunto de operações que estabelecem, sob condições específicas, a relação entre os valores obtidos na medição de um dado analito num determinado aparelho e os mesmos valores em amostras padrão. Os calibradores são padrões com características em tudo semelhantes às amostras analisadas na rotina. São utilizados para testar e ajustar um instrumento relativamente à medição de um analito.<sup>(22)</sup>

## 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).<sup>(4)</sup>

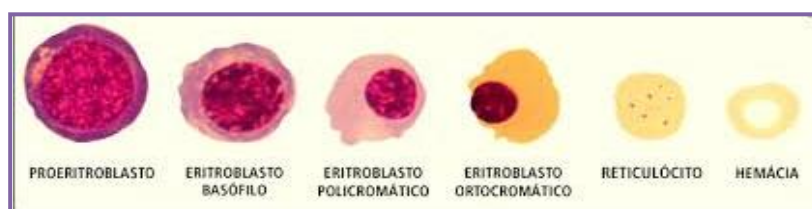


Figura 16- Esquema representativo das diferentes etapas da eritropoiese.

Adaptado de: <http://cadernodefarmacia.blogspot.pt/2012/11/eritropoiese.html>

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 (tabela IV).

Tabela IV - Causas das anemias.

Causa da anemia	Alterações subjacentes	Exemplos
<b>Genética</b>	Alterações na síntese da Hb	Anemia falciforme
		Hemoglobinopatias
		Talassemias
<b>Genética</b>	Alterações na composição da membrana	Eliptocitose hereditária
		Esferocitose hereditária
<b>Genética</b>	Defeitos enzimáticos	Défice de glucose-6-fosfato desidrogenase e piruvato-quinase
<b>Nutricional</b>	Deficiência de ferro	Anemia ferropénica
	Deficiência de vitamina B12	Anemia megaloblástica
	Deficiência de folato	
<b>Hemorrágica</b>	Aguda	Acidentes, parto, cirurgia
	Crónica	Perdas menstruais excessivas, neoplasias digestivas

A classificação das anemias é feita com auxílio da análise de parâmetros eritrocitários fornecidos pelos contadores automáticos, que são descritos em seguida.<sup>(1)</sup>

- **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.<sup>(2, 15)</sup>

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.<sup>(1, 23)</sup>

- **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:<sup>(1, 24)</sup>  $MCV = Hct (L/L) / n^{\circ}RBC (x10^{12}/L)$

- **MCH (hemoglobina corpuscular media)**

Este parâmetro corresponde ao conteúdo de Hb por RBC. Pode ser calculado pela seguinte fórmula, expressando o resultado em picogramas (pg ou  $10^{-12}g$ )<sup>(1)</sup>:

$$MCH = Hb(g/dL) / n^{\circ}RBC (x10^{12}/L)$$

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<sup>(1)</sup>:  $MCHC = Hb(g/dL) / Hct (L/L)$

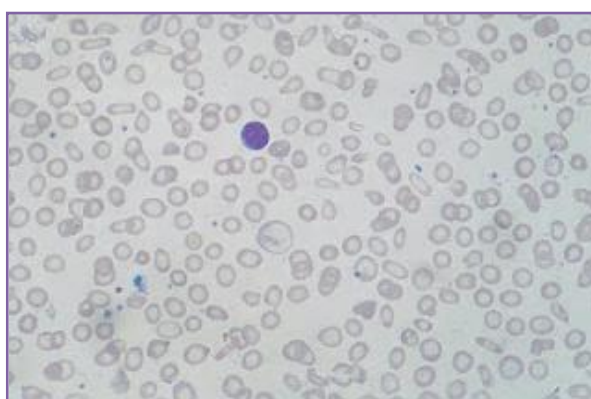
- **“Hypo” e “Hyper” (células hipocrômicas e hiperocrômicas)**

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.<sup>(1, 13)</sup>

- **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.<sup>(1)</sup>

As anemias podem ser classificadas morfológicamente, de acordo com índices MCV e MCHC em três tipos, apresentados na tabela V e na figura 17 pode-se observar uma imagem correspondente a um exemplo de anemia.



**Figura 17** - Exemplo de alterações morfológicas no esfregaço sangue periférico compatível com a presença de uma anemia microcítica e hipocrômica.

Adaptado de: <http://hematologia-iesa.blogspot.pt/2012/03/anemias-microciticase-hipocromicas.html>

**Tabela V** - Classificação das anemias de acordo com os índices eritrocitários.

Classificação das anemias	Valor de VCM	Valor de MCHC	Exemplos
<b>Macroscítica Normocrômica</b>	Aumentado	Normal	Anemia megaloblástica por deficiência de vitamina B12 ou folato
<b>Normocítica Normocrômica</b>	Normal	Normal	Hemorragia aguda
<b>Microscítica Hipocrômica</b>	Diminuído	Diminuído	Anemia ferropénica

Para além dos índices referidos, na avaliação da linhagem eritroide há outros parâmetros que podem ser importantes e que são fornecidos pelos aparelhos automáticos referidos anteriormente; no entanto nem todos os aparelhos determinam os mesmos parâmetros, como se pode observar na tabela VI.

**Tabela VI** - Parâmetros de avaliação eritrocitária fornecidos pelos três analisadores.

Parâmetro	Sysmex XE-5000	Advia 120	Coulter LH750
<b>Hb</b>	X	X	X
<b>Hct</b>	X	X	X
<b>MCV</b>	X	X	X
<b>MCH</b>	X	X	X
<b>MCHC</b>	X	X	X
<b>HYPO,HYPER</b>	X	X	
<b>MICRO,MACRO</b>	X	X	
<b>RDW</b>	X	X	X
<b>HDW</b>	X	X	
<b>MSCV</b>			X
<b>RET</b>	X	X	X
<b>MCVr,MCHr,MCHCr</b>		X	
<b>Ret-He</b>	X		
<b>MRV</b>			X
<b>IRF</b>	X	X	X
<b>HLR</b>	X		
<b>NRBC</b>	X		X

- **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.<sup>(13, 24-26)</sup>

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

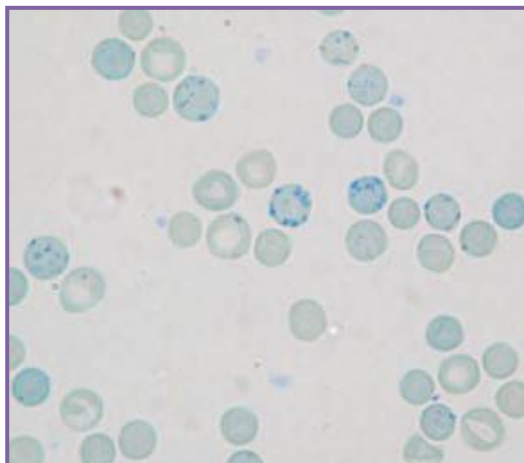
Representa o grau de anisocromia, ou seja, a variação da concentração de Hb dos RBC. Aumenta por exemplo no caso de uma anemia sideroblástica, em doentes com hipocromia que são transfundidos com RBC normais do dador; pode ainda, aumentar no caso de esferocitose hereditária e de anemias hemolíticas auto-imunes.<sup>(27)</sup>

- **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).<sup>(28-30)</sup>

- **RET (reticulócitos)**

Os RET (figura 18) 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).



**Figura 18** – Esmregaço de sangue periférico com reticulócitos corados com coloração supravital. Adaptado de:  
[http://www.basesmedicina.cl/hematologia/15\\_3\\_anemia\\_mega/contenidos.htm](http://www.basesmedicina.cl/hematologia/15_3_anemia_mega/contenidos.htm)

Os valores de RET estão habitualmente aumentados devido a estimulação da eritropoiética, em caso de:

- Hemorragia
- Hemólise
- Terapia com ferro
- Policitemia
- Síndromes mieloproliferativos
- Recuperação da MO após quimioterapia e radioterapia
- Administração de eritropoietina humana recombinante

Os valores de RET estão diminuídos devido a hipoplasia medular, em caso de:

- Deficiência de ferro, folato e vitamina B12
- Pós quimioterapia ou radioterapia recente
- Doença autoimune – artrite reumatoide
- Malnutrição
- Urémia

Para além da contagem de RET os contadores podem também fornecer informações sobre a morfologia dos RET e o seu grau de maturação.<sup>(1, 13, 24, 31, 32)</sup>

- **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, hipocrômicos, 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 deteção 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.<sup>(13, 24, 28, 32)</sup>

- **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.<sup>(13)</sup>

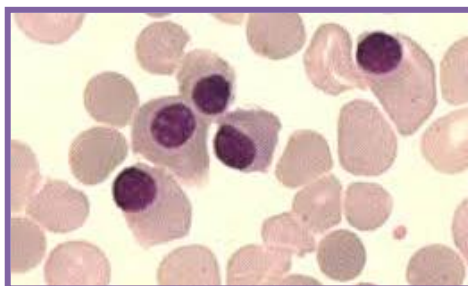
- **HLR (reticulócitos de elevada dispersão)**

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.<sup>(30)</sup>

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

Os eritroblastos (figura 19) 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 extra-medular, 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.<sup>(13, 24)</sup>



**Figura 19** – Esfregaço de sangue periférico com presença de eritroblastos. Adaptado de: [http://www.farmacia.ufmg.br/ACT/Imagens%20Hematologia\\_arquivos/error.htm](http://www.farmacia.ufmg.br/ACT/Imagens%20Hematologia_arquivos/error.htm)

### Interferências nos parâmetros eritrocitários

Apesar de os autoanalisadores fornecerem ótimos resultados nas contagens celulares, há situações que podem interferir nos resultados finais. Referem-se de seguida alguns fatores que podem alterar o eritrograma (tabela VII).

**Tabela VII** - Possíveis interferências na contagem eritrocitária.

	Aumento	Diminuição
<b>RBC</b>	PLT gigantes Leucocitose Fibrina	Aglutininas RBC microcíticos Crioglobulinas Hemólise
<b>Hb</b>	Lipémia Bilirrubinemia Leucocitose Hiperproteinémia	
<b>Hct</b>		Amostra coagulada RBC microcíticos Hemólise
<b>MCV</b>	Leucocitose Aglutininas Hiperglicemia Armazenamento prolongado da amostra (exposição ao EDTA)	
<b>MCH</b>	Lipémia Falso aumento da Hb Falsa diminuição dos RBC Aglutinação de RBC	
<b>MCHC</b>	Lipémia Crioglobulinas Hiperbilirrubinémia Aglutininas Hemólise Amostra coagulada Diminuição do Hct (falseado)	Hiperglicemia PLT gigantes
<b>RET</b>	PLT gigantes Agregados PLT Inclusões citoplasmáticas	

A presença de PLT gigantes numa amostra condiciona uma diminuição na contagem de PLT, que podem ser contadas como WBC e RBC consoante as suas dimensões.

Uma leucocitose, principalmente em doentes anémicos, leva a um falso aumento da contagem de RBC. Nesta situação o MCV terá um resultado que é dado como sendo a média de volumes de RBC e WBC e, por esse motivo, também este parâmetro aumenta.

A presença de imunoglobulinas ou de fibrinogénio precipitados por baixas temperaturas pode causar interferências nas contagens, resultando principalmente num falso aumento dos WBC, mas podendo também causar pequenos aumentos de Hb, Hct e RBC, e uma pequena diminuição do MCV. Aquecendo a amostra a 37°C estes falsos resultados podem ser corrigidos.

No caso de aglutinação dos RBC, dois RBC agregados são contados como um RBC, mas agregados maiores que excedem o limiar de deteção para os RBC já não são contados, o que determina uma diminuição na contagem dos RBC e um aumento falseado do MCV. A determinação da Hb é pouco afetada neste caso. Um pré-aquecimento da amostra elimina esta interferência. Um valor baixo de RBC com aumento do MCV e MCHC deverá ser considerado como um indicador sugestivo da presença de aglutininas frias.

A presença de crioglobulinas pode, ainda, alterar as contagens de RBC, por causar problemas na aspiração da amostra e na bomba de fluxo, devido ao aumento da viscosidade da amostra.

A presença de RBC microcíticos pode falsear os resultados da contagem de RBC pois apresentando um volume inferior ao definido para a deteção de RBC, serão contados como PLT.<sup>(15, 17, 20, 33, 34)</sup>

A concentração de Hb é determinada por espectrofotometria, por isso, condições como hiperlipidémia, hiperbilirrubinémia, valores muito elevados de WBC e níveis elevados de proteínas no sangue podem interferir com a sua leitura de absorvância e alterar o resultado para valores falsamente superiores de Hb. A hemólise também é um fator condicionante na determinação da concentração de Hb. Em condições normais, a Hb livre no plasma tem uma concentração muito baixa e não interfere com a determinação da concentração de Hb dos RBC. Porém, em determinadas circunstâncias, como em caso de hemólise intravascular (válvulas mecânicas, anemia hemolítica) a Hb livre está aumentada, alterando a concentração total de Hb, que será atribuída à concentração de Hb dos RBC.<sup>(2, 17, 33, 34)</sup>

A hiperglicemia torna os RBC hipertónicos em relação ao fluido isotónico de diluição, promovendo a entrada de água na célula, que aumenta de volume e,

consequentemente, aumenta o MCV. Esta interferência pode ser diminuída se houver mais tempo para atingir o equilíbrio após a diluição (no equipamento). A hiperglicemia aumenta, portanto, o Hct e diminui o MCHC. A presença de RBC macrocíticos e hipocrómicos deve ser um sinal para suspeita de hiperglicemia.<sup>(15, 17, 20)</sup>

Os valores de RET podem estar falsamente aumentados devido à presença de inclusões celulares (Howell-Jolly ou corpos de pappenheimer) e de parasitas.

Na eritropoiese, um defeito na maturação nuclear, como acontece nas anemias megaloblásticas, devido a défice de vitamina B12 ou folatos, determina a produção de RBC maiores com um conteúdo normal de Hb. Assim o MCV e o MCH estão aumentados, enquanto o MCHC permanece normal. Existe ainda anisocitose, com um aumento do RDW.

Defeitos na composição e síntese de Hb resultam na produção de RBC menores, com um baixo MCV, com ou sem anisocitose. No caso das talassemias, os RBC são uniformemente mais pequenos (diminuição do MCV e RDW normal), enquanto, nas anemias por deficiência de ferro a anisocitose (aumento do RDW) pode ser dos primeiros achados laboratoriais, mesmo antes do aparecimento de anemia e de microcitose. No caso de alteração na síntese de Hb, há um aumento do número de divisões celulares, levando à produção de células microcíticas.

Os índices dos RBC são importantes na classificação das anemias. As anemias microcíticas são normalmente hipocrómicas, o que é confirmado pelo valor diminuído de MCHC. Não há anemias hiperocrómicas, no entanto, no caso da esferocitose (esferocitose hereditária e anemias imuno-hemolíticas) o MCHC aumenta devido à perda de membrana dos RBC sem perda de Hb, ou seja, o RBC toma a forma esférica, torna-se mais pequeno e com o mesmo conteúdo de Hb, o que sugere uma falsa hiperchromia por aumento dos valores de MCHC para valores iguais ou superiores a 35g/dL.

O RDW é uma medida de anisocitose que auxilia na avaliação das anemias com base na morfologia dos RBC.

É sempre importante para a avaliação das anemias a visualização de um esfregaço sanguíneo, pois os índices dos RBC, RDW e histogramas não permitem detetar a presença de inclusões celulares (parasita da malária p.e.) ou de alterações na morfologia dos RBC.<sup>(17, 23, 35)</sup>

## Parâmetros de avaliação plaquetária

As plaquetas (figura 20) 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. Quando há alterações esplênicas por atrofia esplênica ou esplenectomia, ocorre um aumento das PLT circulantes. Pelo contrário, se ocorrer hiperesplenismo (aumento da atividade do baço) pode ocorrer uma diminuição das PLT circulantes, por sequestração aumentada.



**Figura 20** – Esfregaço de sangue periférico, onde se observam PLT e RBC.

Adaptado de: <http://www.medicinapreventiva.com.ve/laboratorio/plaquetas.htm>

Um valor elevado de PLT ou trombocitose, pode ser de origem primária ou secundária. A trombocitose primária pode ocorrer em síndromes mieloproliferativas, como a trombocitose essencial, policitemia vera e mielofibrose, e ainda em caso de leucemia mieloide crônica. A trombocitose secundária, pode ser devida a inflamação, hemorragia, hipoesplenismo ou deficiência de ferro.

Um valor baixo de PLT ou trombocitopenia, pode dever-se a uma diminuída produção de plaquetas na MO, destruição de PLT na corrente sanguínea, ou a um aumento do consumo de PLT. Dois exemplos de trombocitopenia são a Púrpura Trombocitopénica Idiopática (PTI) e a Púrpura Trombocitopénica Trombótica (PTT).

A PTI é caracterizada pela presença de trombocitopenia, que na maioria dos casos está relacionada com a presença de anticorpos anti-plaquetários. Normalmente é assintomática e os principais sinais são o aparecimento de petéquias, equimoses e manifestações hemorrágicas. Pode haver um aumento de PLT gigantes, devido a um aumento da atividade da MO para compensar a diminuição do número de PLT.

A PTT é uma trombocitopenia com microangiopatia e agregação plaquetária. Está associada a anemia hemolítica microangiopática com trombocitopenia acentuada, comprometimento neurológico, disfunção renal e febre. Esta situação ocorre devido ao aumento da agregação plaquetária, formando-se microtrombos que provocam a lise dos RBC (anemia hemolítica), redução do fluxo sanguíneo, devido à formação de microtrombos, que podem condicionar eventos trombóticos com alterações neurológicas. Esta patologia está associada a um défice funcional de ADAMTS 13, uma metaloprotease

plasmática que inibe a acumulação de multímeros do fator de Von Willebrand, os quais potenciam a agregação de PLT. A sua deficiência pode ser congénita, devido a alteração no gene da enzima, ou devido a anticorpos anti-ADMTS 13.

Para além da contagem das PLT, o contador pode ainda fornecer índices plaquetários muito úteis no estudo das trombocitopenias. Na tabela VIII apresentam-se os parâmetros plaquetários determinados pelos três aparelhos:

**Tabela VIII** - Parâmetros de avaliação plaquetária fornecidos pelos três analisadores.

Parâmetros	Sysmex XE-5000	Advia 120	Coulter LH750
<b>MPV</b>	X	X	X
<b>PDW</b>			X
<b>LPLT</b>		X	
<b>PLT-O</b>	X		
<b>IPF</b>	X		

- **MPV (volume médio plaquetário)**

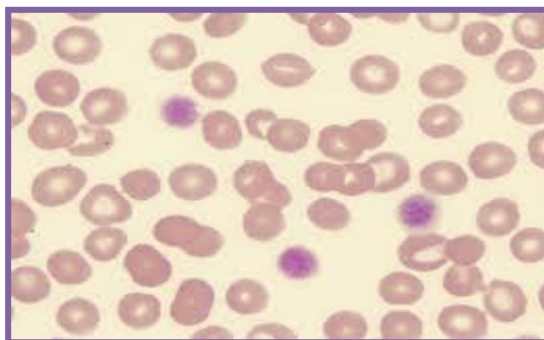
O MPV reflete o volume médio das PLT em circulação, sendo que estas podem variar de tamanho e atividade funcional. As PLT gigantes têm habitualmente uma funcionalidade maior que as PLT normais. O MPV aumenta quando há um aumento da produção de PLT, que é acompanhado pela entrada de PLT mais jovens na 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 trombogénicos (maior conteúdo de tromboxano A<sub>2</sub>, agregam mais facilmente *in vitro*, contêm mais grânulos densos, têm maior expressão dos recetores de membrana). Por isso, um aumento do MPV tem sido associado com morbilidade 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 isquémicos de enfarte de miocárdio.<sup>(13, 36)</sup>

- **PDW (Platelet distribution width)**

O PDW indica a heterogeneidade dos volumes plaquetários, indicando a presença de anisocitose plaquetária.<sup>(13, 36, 37)</sup>

- **LPLT (plaquetas gigantes)**

Este parâmetro é o correspondente ao IPF do autoanalisador Sysmex, representando a porção de plaquetas gigantes (figura 21), ou seja de plaquetas mais imaturas, recém-formadas. O aumento do LPLT está habitualmente associado a trombocitopenias com MPV e PDW elevados.<sup>(24, 38)</sup>



**Figura 21** – Esfregaço se sangue periférico onde se podem observar PLT gigantes. Adaptado de: <http://ddcnovasprespectivas.blogspot.pt/2013/06/neoplasias-mieloproliferativas-e.html>

- **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.<sup>(39)</sup>

- **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 da 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.<sup>(13, 24, 28, 32)</sup>

Pode ocorrer a formação de agregados plaquetários quando se utiliza o EDTA como anticoagulante. Neste caso haverá uma contagem errônea do número de PLT, assim como nos índices plaquetários.

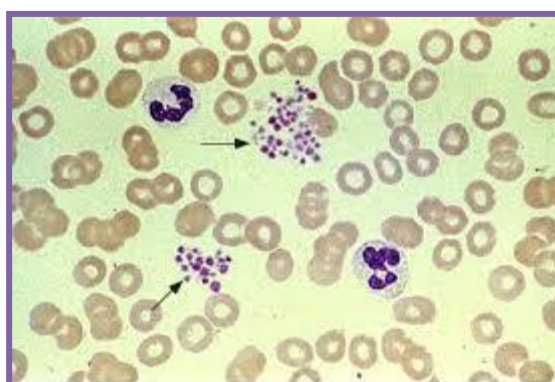
### Interferências nos parâmetros plaquetários

As contagens de PLT podem sofrer interferências que podem falsear os seus resultados, como analisado em seguida na tabela.<sup>(15, 20, 33, 40)</sup>

**Tabela IX** - Possíveis interferências na contagem de PLT

	Aumento	Diminuição
<b>PLT</b>	Fragmentos RBC Fragmentos citoplasmáticos de células nucleadas Criglobulinas e fibrinogênio Bactérias e fungos Lípidos	Aglutinação PLT Satelitismo de PLT (PMN) PLT gigantes Coagulação da amostra

Há várias situações que podem provocar, uma diminuição na contagem automática no número de PLT. A pseudotrombocitopenia relacionada com o EDTA, é um desses casos. É causada por proteínas específicas, presentes na amostra, que reagem com as PLT apenas na presença de EDTA, produzindo agregados plaquetários (figura 22).

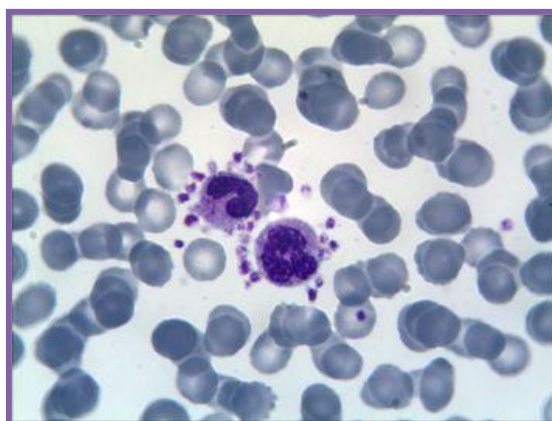


**Figura 22** – Esfregaço de sangue periférico onde podem ser observados agregados plaquetários. Adaptado de: <http://hchimcr.blogspot.pt/2009/12/hemapseudotrombocytopenia.html>

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. Estes agregados plaquetários (induzidos pelo EDTA) não apresentam relação com a atividade plaquetária considerada

responsável pelo desenvolvimento de alguns problemas de trombose arterial, como o caso de enfarte do miocárdio ou AVC. Os agregados plaquetários podem ter origem *in vivo*, quando confirmados com uma amostra colhida com citrato de sódio, ou, não se confirmando a agregação das PLT, é apenas resultado de um fenómeno *in vitro*. Nesta situação a agregação das PLT ocorre poucos minutos após a colheita de sangue com EDTA e é mais comum em amostras conservadas à temperatura ambiente.

A pseudotrombocitopenia causada por satelitismo plaquetário em torno dos WBC (neutrófilos polimorfonucleares - PMN), também é um fator que diminui os valores da contagem de PLT. O satelitismo (figura 23) é um fenómeno *in vitro* que ocorre ao longo da conservação da amostra, podendo, no entanto, ocorrer alguns minutos após a colheita de amostra. Inicia-se com uma migração das PLT para uma população de PMN, formando um agregado à volta das células que, com o tempo, se pode desagregar originando PMN livres e agregados plaquetários independentes dos PMN.<sup>(41, 42)</sup>



**Figura 23** – Esfregaço de sangue periférico onde se pode observar a presença de satelitismo plaquetário em torno de PMN. Adaptado de:  
<http://www.atlasbloodcells.es/ficha.php?codigo=644&codigo2=3859&indice=644>

A presença de PLT gigantes pode determinar alterações na contagem plaquetária, originando valores mais baixos, uma vez que as PLT gigantes, excedendo o limiar de volume definido para a contagem de PLT, podem ser contadas como WBC ou como RBC. A não deteção de PLT gigantes revela-se um problema, principalmente em casos de trombocitopenias, devendo por isso, fazer-se sempre a observação do esfregaço sanguíneo em caso de trombocitopenia.

São diversas as situações que podem originar uma contagem diminuída de PLT, sendo a colheita da amostra um fator muito importante. Amostras diluídas (pouco volume de sangue para a quantidade de anticoagulante no tubo, o que pode acontecer em colheitas difíceis), ou um tempo de análise muito longo, desde a colheita até ao processamento da amostra, podem alterar o volume plaquetário, contribuindo para contagens erradas no valor de PLT e/ou nos índices plaquetários. A má homogeneização (do sangue com o anticoagulante) é também um fator que pode ser responsável pela

diminuição da contagem de PLT, uma vez que, não sendo inibido o processo de coagulação pelo anticoagulante, se formarão agregados plaquetários.

Os valores de PLT podem também aumentar falsamente em determinadas circunstâncias. A presença de fragmentos de RBC ou de RBC com muito baixo volume, com dimensões semelhantes às PLT, podem ser contados nos autoanalisadores como PLT. Esta situação pode ocorrer em casos de anemias microcíticas (RBC de baixo volume) ou em anemia microangiopática (esquizócitos). Este erro ocorre principalmente nos aparelhos com contagem plaquetária pelo método de impedância, pois pelo método ótico é feita a distinção entre estas células. Outros fragmentos celulares, de blastos, monoblastos, linfoblastos, podem também ser erradamente contados como PLT.

A presença de microrganismos na amostra pode também ser responsável por valores erróneos nas contagens de PLT, nomeadamente a presença de fungos e/ou bactérias.

Os lípidos podem causar alterações nas contagens plaquetárias, aumentando os valores de PLT, como acontece em amostras provenientes de doentes com hiperquilomiconemia ou em amostras colhidas sem jejum. Nestes casos, os lípidos podem originar *in vitro* a formação de gotas que são contadas como PLT, aumentando assim os valores de PLT.

As crioglobulinas e o criofibrinogénio também podem elevar os resultados das contagens de PLT.

Também as bolhas de ar que se formam no fluxo de células a ser analisadas nos aparelhos, ou nas aberturas dos canais de impedância, podem ser responsáveis pela alteração nas contagens de PLT.<sup>(43)</sup>

Apesar de importantes, os índices de avaliação plaquetária são pouco utilizados na prática médica. Este facto deve-se à grande instabilidade que estes índices apresentam ao longo do tempo de coagulação da amostra.

Quando a contagem de PLT está abaixo ou acima dos valores de referência, deve ser efetuada uma avaliação microscópica do esfregaço sanguíneo, com o objetivo de retificar/confirmar a contagem fornecida pelo autoanalisador. Cerca de 30% das PLT circulantes são sequestradas pelo baço e as PLT esplénicas tendem a ser maiores que as circulantes. As PLT esplénicas podem ser libertadas para a circulação após exercício físico ou administração de adrenalina, contribuindo para um aumento do MPV.

O EDTA é o anticoagulante que se deve usar quando se pretende fazer contagens celulares, mas altera a morfologia plaquetária, alterando a sua forma elíptica nativa para uma forma esférica. O EDTA promove um aumento da concentração intracelular de AMPc e altera a permeabilidade da membrana citoplasmática, induzindo intumescência progressiva e diminuição da densidade ótica. Como consequência, o MPV aumenta em

função do tempo de colheita, quando determinado por impedância, e diminui quando determinado pelo método ótico. Há outros anticoagulantes com diferentes efeitos sobre o MPV; amostras colhidas com citrato de sódio apresentam um MPV menor do que as colhidas com EDTA.

Os índices plaquetários têm interesse clínico, pois permitem diferenciar trombocitopenias por destruição periférica, das hipoproliferativas, determinar a probabilidade de um doente com trombocitose ter uma doença mieloproliferativa, e de uma grávida desenvolver pré-eclâmpsia ou doença hipertensiva. A relação do tamanho das PLT com a sua função e o papel intrínseco das PLT na formação do trombo, revela-se de grande importância na relação existente entre o MPV e o risco de doença cardiovascular. Em doentes trombocitopénicos um MPV aumentado pode indicar um aumento da destruição das PLT devido, por exemplo, a sépsis, pré-eclâmpsia ou PTT. Pelo contrário um MPV baixo pode indicar uma produção hipoplástica de PLT ou hiperesplenismo. Em doentes trombocitopénicos, a avaliação do MPV é importante, pois ajuda na diferenciação das causas da trombocitopenia, hipoprodução ou hiperdestruição. No caso de hipoprodução o MPV diminui enquanto na hiperprodução aumenta. A supressão da MO por agentes quimioterápicos é refletida por um MPV baixo ou normal, tendendo para o limite inferior. Assim que a produção de PLT é recuperada, após quimioterapia ou septicemia, o MPV aumenta, mesmo antes de ocorrerem aumentos significativos na contagem de PLT. Em doentes com trombocitose mieloproliferativa o PDW está aumentado, quando comparado com trombocitose reativa. Um MPV elevado sem trombocitopenia pode ocorrer no caso de leucemia mieloide crónica e talassemia heterozigótica. O MPV está diminuído na insuficiência renal crónica.

As PLT e os fatores de crescimento derivados das PLT são componentes importantes na formação da placa aterosclerótica. Doentes que sofrem de enfarte agudo do miocárdio, apresentam MPV elevado; tem sido referido que o fumo de tabaco aumenta o MPV em idosos com fatores de risco ateroscleróticos. Apesar de o MPV estar aumentado no enfarte do miocárdio, ocorre uma redução de macroplaquetas no momento do enfarte, sugerindo um aumento do consumo de PLT maiores e hemostaticamente mais ativas. O tamanho das PLT é um fator de risco de mortalidade por enfarte do miocárdio, em homens. Aumentos acentuados do PDW e diminuição na contagem de PLT podem ser uma característica de estados pré-trombóticos em doenças coronárias. O rácio de PLT gigantes aumenta significativamente em doentes com hipercolesterolemia e/ou hipertrigliceridemia quando comparados com indivíduos normais. Este facto sugere que as PLT maiores são mais reativas e podem contribuir para eventos vaso-oclusivos em doentes com dislipidemias. Por isso os indicadores para a presença de PLT gigantes

podem ser utilizados como indicadores de fator de risco para eventos tromboembólicos isquêmicos.<sup>(12, 13, 44)</sup>

### Parâmetros de avaliação leucocitária

Os leucócitos (figura 24) 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 infecções; o seu aumento designa-se por leucocitose e ocorre normalmente como resposta a infecções, inflamações e “stress” e hemopatias malignas.



**Figura 24** – Esfregaço de sangue periférico onde podem ser observados os diferentes tipos de WBC. Adaptado de: <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Corpo/Circulacao4.php>

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 infecções bacterianas e em processos inflamatórios. Os eosinófilos (EOS) participam na defesa contra infecções 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.

Para além da contagem total e diferencial de leucócitos, os contadores automáticos fornecem outros parâmetros para avaliação da população leucocitária, que são apresentados na tabela X.

**Tabela X** - Parâmetros leucocitários fornecidos pelos três analisadores.

Parâmetros	Sysmex XE-5000	Advia 120	Coulter LH750
<b>IG</b>	X		
<b>LUC</b>		X	
<b>PMN, MN, LI</b>		X	
<b>HPC</b>	X		

- **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 infecções, sendo um resultado útil no diagnóstico de processos infecciosos, nomeadamente sépsis. A hemocultura é o parâmetro usado por rotina no diagnóstico de infecções 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 crônica (LMC), e de outras hemopatias malignas. <sup>(12, 13, 20, 24, 32, 45-47)</sup>

- **LUC (large unstained cells)**

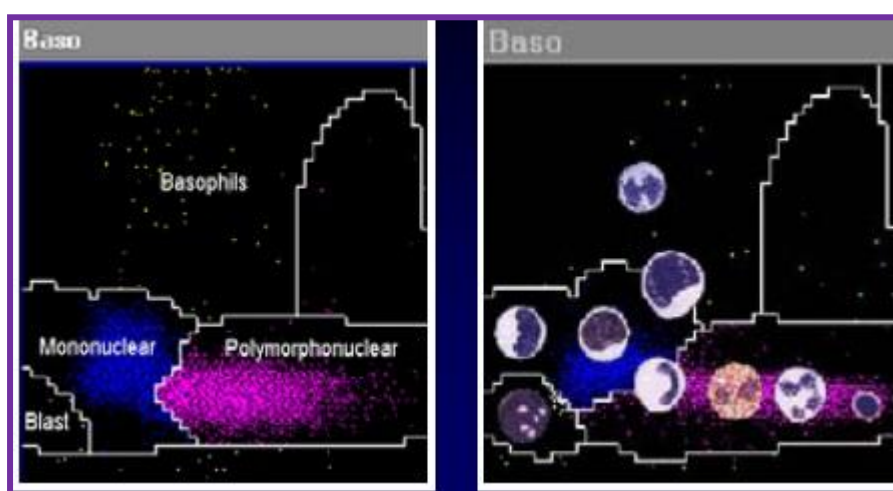
As LUC correspondem a células atípicas no sangue periférico, de grande tamanho e peroxidase negativas (linfócitos grandes atípicos, plasmócitos e blastos). Um valor de LUC inferior a 4% deve considerar-se normal; no entanto, quando é superior, deve fazer-se um esfregaço sanguíneo para observação microscópica. 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 déficit de peroxidase granulocitária. <sup>(48, 49)</sup>

- **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 infecções.

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.<sup>(4,18,50)</sup>



**Figura 25** - Exemplo de um citograma obtido no autoanalisador ADVIA 120 no canal dos Basófilos. Adaptado de (ver referencia nº4)

- **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.<sup>(51, 52)</sup>

### Interferências nos parâmetros leucocitários

Os resultados da contagem de leucócitos podem estar falsamente alterados, devido a diversos fatores que são descritos em seguida.<sup>(7, 15, 20, 33, 34)</sup>

**Tabela XI** - Possíveis interferências na contagem leucocitária.

	Aumento	Diminuição
<b>WBC</b>	Agregados PLT PLT gigantes NRBC RBC resistentes à lise Fibrina, crioglobulinas e parasitas	Coagulação da amostra Agregados WBC Lise WBC (amostra envelhecida, WBC frágeis – leucemia) Leucemia em tratamento com quimioterapia (WBC frágeis e fragmentos podem ser contados como PLT)

Para a maioria dos autoanalisadores uma partícula maior do que uma PLT e que não é destruída pelo reagente de lise será identificada como um WBC.

Valores falsamente diminuídos de WBC podem ser devidos a agregados de PMN devido ao EDTA. Não existe relação entre este fenómeno, que ocorre *in vitro* devido à presença do anticoagulante, e o fenómeno *in vivo*, que ocorre em doenças como o síndrome do desconforto respiratório (insuficiência pulmonar causada por vários distúrbios que levam à acumulação de líquido nos pulmões, provocando um aumento da permeabilidade dos capilares e consequente edema pulmonar) e leucostase (acumulação anormal de WBC nos vasos capilares sanguíneos e formação de trombos, que é comum nas leucemias), nos quais os PMN agregam como consequência de interações da membrana com o complemento. A formação de outros agregados de WBC para além dos PMN também pode ocorrer na presença de EDTA.

Uma diminuição dos WBC não relacionada com a agregação pode ser devido a situações em que as amostras contêm um excesso de anticoagulante EDTA (K<sub>3</sub> líquido). Nesta situação a amostra está mais diluída, devido a colheita de pouco sangue para a quantidade de anticoagulante contido no tubo de colheita.

O aumento falseado dos valores de WBC ou pseudoleucocitose pode ocorrer devido à presença de agregados plaquetários suficientemente grandes para atingir o tamanho dos WBC. Os autoanalisadores estudados detetam esta alteração, indicando-a como um alerta. Algumas PLT muito grandes podem estar presentes em síndromes

mieloproliferativos e mielodisplásicos, cujo volume pode atingir o dos WBC e assim serem contadas como tal.

O reagente de lise dos RBC dos autoanalisadores destrói a membrana dos NRBC e deixa livre o núcleo destas células, cujo tamanho é semelhante ao das PLT gigantes e dos agregados plaquetários. Assim, os NRBC e agregados de PLT interferem nas contagens de WBC de forma idêntica. Alguns aparelhos fazem já contagem de NRBC.

Os RBC resistentes à lise podem surgir numa amostra, por exemplo de um recém-nascido ou em condições patológicas de anemias, doença hepática, urémia e quimioterapia. Estes RBC são contados como WBC e, por isso, aumentam falsamente a sua contagem.<sup>(33)</sup>

As crioglobulinas, para além de aumentarem a contagem de WBC, também aumentam a das PLT, e por vezes dos RBC e da Hb. No esfregaço sanguíneo pode ser observada a presença de crioprecipitados. As crioglobulinas são imunoglobulinas que precipitam a uma temperatura inferior a 37°C e podem determinar resultados errados nos analisadores, que efetuam as contagens à temperatura ambiente. Os crioprecipitados afetam as populações celulares, de acordo com o seu tamanho. Quando a amostra é aquecida à temperatura de 37°C e analisada novamente esta alteração desaparece; no entanto, é recomendado pedir nova colheita e manter a amostra a 37°C até ser analisada.<sup>(53, 54)</sup>

O criofibrinogénio e fibrina também podem ser responsáveis por aumentar os valores de WBC e de PLT, pois pode ocorrer polimerização da fibrina após uma punção venosa difícil, iniciando a coagulação antes de o sangue ser homogeneizado com o EDTA.

Os lípidos também podem interferir na contagem de WBC devido à presença de gotas lipídicas de tamanho suficiente para interferir com as contagens de PLT e de WBC.

Alguns microrganismos, como bactérias ou fungos, podem levar ao aumento das PLT, mas, quando agregados, podem alterar também as contagens de WBC.<sup>(17)</sup>

## Conclusão

Os autoanalisadores 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.<sup>(13)</sup> 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.<sup>(6)</sup>

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 autoanalisador, é conhecer as suas limitações, possíveis interferências e saber interpretar os valores apresentados.<sup>(7)</sup>

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. Bruno J, Miguelote R, Henriques-Coelho T, Leite-Moreira PDA. Hemograma2001/2002. Available from: [http://fisiologia.med.up.pt/Textos\\_Apoio/sangue/Hemograma.pdf](http://fisiologia.med.up.pt/Textos_Apoio/sangue/Hemograma.pdf).
2. Automated cell counting analyzers2011:(1-15 pp.). Available from: <http://webmedia.unmc.edu/alliedhealth/CLS/CLS417%2011/11Auto%20Unit%20Cell%20Counting%20Instruments%20Handout.pdf>.
3. Costa AC, Ribeiro B, Costa E. Índices plaquetários em indivíduos com doença hepática alcoólica crônica Arquivos de Gastroenterologia. 2007;44:201-4.
4. 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).
5. Lehnera J, Greveb B, Cassensa U. Automation in Hematology. Transfusion Medicine and Hemotherapy. 2007;34:328-39.
6. 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.
7. 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).
8. Fluorescence flow cytometry2005:(1-12 pp.). Available from: [http://www.sysmex.se/files/articles/Xtra\\_FFC.pdf](http://www.sysmex.se/files/articles/Xtra_FFC.pdf).
9. XE-5000, automated hematology analyzer2011. 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).
10. Introduction to Hematology Technology2009. Available from: [http://www.sysmex.co.jp/en/ir/data\\_irreport/annual/pdf/2009/sysmexAR2009\\_11.pdf](http://www.sysmex.co.jp/en/ir/data_irreport/annual/pdf/2009/sysmexAR2009_11.pdf).
11. Brown M, Wittwer C. Flow Cytometry: Principles and Clinical Applications in Hematology. Clinical Chemistry. 2000;46:1221-9.
12. Cornar SR, Silva Pd. Determinação laboratorial e aplicação clínica dos parâmetros de volume plaquetário. Revista Brasileira de Análises Clínicas. 2009;41:257-65.
13. Briggs C. Quality counts: new parameters in blood cell counting. International Journal of Laboratory Hematology 2009;31:277-97.
14. XE-5000 Sistema Automatizado para Hematologia2010. Available from: <https://www.sysmex.com/la/pt/Products/Documents/XE-5000-Portugu%C3%AAs.pdf>.
15. Broome HE. Validating the Blood count and Auto-differential. American Association for Clinical Chemistry.

16. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Potential utility of the new Sysmex XE 5000 red blood cell extended parameters in the study of disorders of iron metabolism. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2009;47:1411-6.
17. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2007;29:4-20.
18. Rodak BF, Fritsma GA, Doig K. *Hematology: Clinical Principles and Applications*: Saunders Elsevier; 2007.
19. Fernandez T, Domack LB, Montes D, Pineiro R, Laundrum E, Vital E. Performance Evaluation of the Coulter LH 750 Hematology Analyzer. *Laboratory Hematology*. 2001;7:217-28.
20. Vazifdar A. Validation procedures for cell analyzers. Available from: [https://tmc.gov.in/medical/departments/doc/Hematopathology%20Proceedings%20HPC%20-%20PPS%20on/pdf/Dr%20Archana\\_final%20tmh.pdf](https://tmc.gov.in/medical/departments/doc/Hematopathology%20Proceedings%20HPC%20-%20PPS%20on/pdf/Dr%20Archana_final%20tmh.pdf).
21. Hauser AB. Programa de controle de qualidade em hematologia: variações interlaboratoriais para eritograma e plaquetas em Curitiba e região metropolitana - PR: Universidade Federal do Panamá; 2003.
22. Lopes HJdJ. Garantia e controle de qualidade no laboratório clínico. Available from: [http://www2.ucg.br/cbb/professores/26/Biomedicina/4\\_periodo/Bioquimica\\_3/Garantia\\_e\\_Controlo\\_da\\_Qualidade\\_no\\_Laboratorio\\_Clinico.pdf](http://www2.ucg.br/cbb/professores/26/Biomedicina/4_periodo/Bioquimica_3/Garantia_e_Controlo_da_Qualidade_no_Laboratorio_Clinico.pdf).
23. Walker HK, Hall WD, Hurst JW. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. Georgia: Emory University School of Medicine; 1990. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21250045>.
24. Grotto HZW. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2009;31:178-82.
25. Aulakh R, Sohi I, Singh T, Kakkar N. Red Cell Distribution Width (RDW) in the Diagnosis of Iron Deficiency with Microcytic Hypochromic Anemia. *Indian Journal of Pediatrics*. 2009;76:265-68.
26. Helena Z, Grotto W. Diferenciação das anemias microcíticas utilizando a determinação do RDW. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2008;30:85-8.
27. Orkin S, Nathan D, Ginsburg D, Look T, Fisher D. *Hematology of Infance and Childhood*. 7<sup>a</sup> ed: Elsevier; 2009. 459-61.
28. 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.
29. Acton QA. *Issues in Hematology*. Georgia: Scholarly Editions; 2011.

30. 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.
31. Provan D, Singer CRJ, Baglin T, Lilleyman J. *Oxford Handbook of Clinical Haematology*, Second edition: Oxford University; 2004.
32. Novos parâmetros em hematologia. 41º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial; Salvador: Sysmex; 2007.
33. Allen A. *Hematology – clinical principles and applications*: Elsevier; 2007.
34. Automated cbcs. Available from:  
[http://www.austincc.edu/mlt/hem/Lab8AutomatedCBC\\_F07.PDF](http://www.austincc.edu/mlt/hem/Lab8AutomatedCBC_F07.PDF).
35. Provan D, Krentz A. *Oxford Handbook of Clinical and Laboratory Investigation*: Oxford University Press; 2002.
36. Mean Platelet Volume: ClinLab Navigator; 2013 (cited 2014, Maio). Available from:  
<http://www.clinlabnavigator.com/mean-platelet-volume.html>.
37. Shinton NK. *CRC desk reference for hematology*: CRC Press; 1998.
38. 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.
39. Pinkowski R. Difference between impedance and optical platelet count methods in patients with microcytosis of red blood cells. *Laboratory Hematology*. 1999;5:22-7.
40. Sandhaus LM, Osei ES, Agrawal NN, Dillman CA, Meyerson HJ. Platelet Counting by the Coulter LH 750, Sysmex XE 2100, and Advia 120. *American Journal of Clinical Pathology*. 2002;118:235-41.
41. Kjeldsberg CR, Swanson J. Platelet Satellitism. *American Journal of Clinical Pathology*. 2011;43:831-6.
42. Dusse LMS, Vieira LM, Carvalho MdG. Pseudotrombocitopenia. *Jornal Brasileiro de Patologia Medica Laboratorial*. 2004;40:221-4.
43. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2007;29:4-20.
44. 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.

45. 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.
46. Ferrazzi DP, Silva PHd, Henneberg R. Neutrófilo bastonete tem correlação com infecção bacteriana aguda? *Visão Acadêmica*. 2013;14:99-108.
47. Grotto HZW. Granulócitos Imaturos (IG) - Revendo conceitos. Available from: [http://static.labnetwork.com.br.s3.amazonaws.com/wordpress/wp-content/uploads/2013/10/SYSMEX\\_Granul%C3%B3citos-Imaturos.pdf](http://static.labnetwork.com.br.s3.amazonaws.com/wordpress/wp-content/uploads/2013/10/SYSMEX_Granul%C3%B3citos-Imaturos.pdf).
48. Lászlo 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).
49. Merino A. Valores normales del hemograma: ¿cuándo hay que alarmarse? *Janoes*. 2008;42-6.
50. Franco S. Liquor: Sergio Franco, Medicina Diagnostica; (cited 2014 Junho). Available from: <http://www.sergiofranco.com.br/bioinforme/index.asp?cs=FluidosBiologicos&ps=liquor>.
51. 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.
52. Sysmex. FDA approval for haematology HPC parameter. *Laboratory Talk*. 2014.
53. Fohlen-Walter A, Jacob C, Lecompte T, Lesesve J-F. Laboratory Identification of Cryoglobulinemia From Automated Blood Cell Counts, Fresh Blood Samples, and Blood Films. *American Journal of Clinical Pathology*. 2002;119:606-14.
54. al. JFLe. Unusual morphological cryoglobulin manifestations on blood and bone marrow smears. *Hematology Journal*. 2004;89:16-7.



## Relatório de Estágio

Relatório de estágio correspondente ao Mestrado em Análises Clínicas na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

Estágio realizado no Laboratório de Análises Clínicas Dr<sup>a</sup> Isabel Paquim Cerejeira, Go-Saúde

Orientadora de estágio - Dr<sup>a</sup> Maria José Cruz, Diretora Técnica do Laboratório de Análises Clínicas Dr<sup>a</sup> Isabel Paquim Cerejeira, Go-Saúde



Daniela Sofia Gonçalves Pimenta Almeida Braga  
(Julho de 2014)

## Introdução

O estágio relativo ao Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas Dr<sup>a</sup> Isabel Paquim Cerejeira, Go-Saúde sob orientação da Dr<sup>a</sup> Maria José Cruz, desde Dezembro de 2013 a Fevereiro de 2014.

O Laboratório, Go-Saúde, está localizado em São Mamede Infesta na Rua Godinho de Faria pertencente ao concelho de Matosinhos, distrito do Porto. É um Laboratório certificado pela Bureau Veritas, segundo a Norma Portuguesa NP EN ISO 9001:2000.

Este laboratório é constituído por um laboratório central e por várias unidades de colheitas. O estágio foi realizado na área de colheitas, hematologia e bioquímica. A parte das colheitas foi efetuada no posto de Gaia e as duas restantes no laboratório central em S. Mamede.

Neste estágio foi possível observar todas as fases de processamento das amostras, desde a fase pré-analítica (recolha da amostra e transporte), passando pela fase analítica até à pós-analítica (entrega de resultados).

## Fase Pré-Analítica

A fase pré-analítica engloba a receção ao utente, colheita das amostras e transporte das mesmas.

O primeiro passo para a realização de análises clínicas no laboratório é a receção do utente. Nesta fase é feita uma ficha de atendimento, inseridas as análises no programa informático do laboratório (eDeia), introduzidos os dados do utente na respetiva ficha. Ao elaborar a ficha de atendimento no computador, este gera automaticamente as etiquetas necessárias à correta identificação dos produtos biológicos a recolher. Consoante as análises inseridas no programa informático, são geradas etiquetas para tubo de soro, sangue total EDTA, plasma citrato, glicose 30/60/90/120 minutos, amostra urina, urina 24H, fezes (1/2/3/4/5/6 amostras), etc.

Na receção são confirmadas as condições necessárias à correta recolha de produtos biológicos:

- No caso de análise aos triglicerídeos e colesterol é questionado se o utente tem jejum de 12h;
- No caso de análises à hemoglobina glicosilada e microalbuminúria, é questionado se é diabético;
- No caso de análise ao ferro, ferritina, capacidade total de fixação do ferro, ácido fólico ou vitamina B12, se o utente costuma ter anemia;
- No caso de análise à TSH, T4, T3, Atc anti-TPO, Atc anti-tiroglobulina verifica-se se o utente tem problemas de tiróide;
- Se fizer análise bacteriológica avalia-se se tomou antibiótico nos últimos 8 dias;
- No caso de análise ao PSA é questionado se o utente tem problemas de próstata e se fez toque retal ou exames à próstata nas últimas 72 horas.

Esta informação é importante na validação e avaliação dos resultados clínicos.

No caso de recolhas de urinas ou fezes, o material necessário à colheita é fornecido na receção ao utente com as instruções necessárias à sua colheita.

Ao utente é fornecido ainda um cartão de entrega de exames que deverá apresentar quando se apresentar no posto para efetuar o seu levantamento, garantindo a confidencialidade de dados.

Após a receção, o Técnico de colheitas recebe o utente na sala de colheitas, confirmando sempre o seu nome na ficha de atendimento e/ou requisição médica, e as condições adequadas (previamente questionadas na receção) para a colheita de produto

biológico. De seguida avalia-se a prescrição do médico e seleciona-se o material necessário para a colheita.

No caso de colheita de sangue, a punção venosa é feita por sistema de vácuo em que se deve ter atenção a alguns cuidados para uma boa recolha da amostra:

- Evitar muito tempo de garrotagem e de colheita
- Evitar uso excessivo de álcool
- Respeitar o volume necessário de amostra nos tubos com anticoagulante seguindo-se uma homogeneização suave
- Outras condições específicas para alguns analitos: evitar exposição à luz (vitaminas), tubos previamente refrigerados.

Após a punção, o local deve ser devidamente pressionado para que ocorra a hemóstase primária evitando a hemorragia interna subcutânea. Após a colheita é importante avaliar a condição do paciente e recomendar que este não realize esforços durante cerca de 30 minutos.

A centrifugação dos tubos de bioquímica (obtenção de soro) deve respeitar um intervalo desde a formação do coágulo até um período máximo de 30 minutos.

Os tubos de citrato e de fluoreto são também centrifugados logo que possível e todas as recolhas de sangue são conservadas no frigorífico até transporte para o laboratório.

O técnico de colheitas, é ainda responsável pela recolha de zaragoas de exsudados e pesquisa de eosinófilos nasais (esfregaço em lâmina).

Após o período de colheita segue-se o transporte das amostras dos postos de colheitas para o laboratório central. Este processo é realizado por um motorista, as amostras são transportadas numa mala térmica refrigerada.

## Fase Analítica

A fase analítica corresponde à fase de processamento das amostras.

Ao chegar ao laboratório as amostras são entregues na secção da separação. Nesta secção é dada a entrada dos produtos biológicos no sistema informático, ficando assim registada a chegada destes ao laboratório. Em seguida os produtos são distribuídos pelos diferentes setores verificando-se a conformidade das amostras para análise (amostra com volume insuficiente, hemolisada). No caso de um produto não conforme este é avaliado por um técnico superior para avaliar a necessidade de nova recolha.

## Setor da Hematologia

As análises realizadas neste setor têm o objetivo de auxiliar no diagnóstico e seguimento de doenças hematológicas. Neste setor tive a oportunidade de realizar a determinação de Hemograma, Velocidade de Sedimentação, Hemoglobina glicosilada (HbA1c) e determinação do Tempo de Protrombina (PT) e de Tromboplastina Parcialmente Ativada (APTT).

O tipo de amostra utilizada é sangue total colhido com EDTA e plasma com citrato. Das amostras colhidas com EDTA realiza-se o hemograma, velocidade de sedimentação, hemoglobina glicosilada, e das amostras colhidas em citrato faz-se o tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcialmente ativado. Nesta secção realiza-se ainda a pesquisa de eosinófilos num esfregaço em lâmina.

Os aparelhos existentes para a realização das análises, são o Advia 120 da Siemens para o hemograma, Coasys Plus C da Roche para o PT e APTT, HA – 8160 Menarini para as HbA1c e Starsed para as VS. Todos os equipamentos estão sujeitos a manutenções diárias (início e fim de dia) executadas pelo técnico do setor e que são registadas numa matriz própria. Também são realizadas manutenções preventivas pelos fornecedores dos aparelhos. Para além do controlo interno de cada equipamento é também realizado um controlo externo com o programa UK-NEQAS (United Kingdom National External Quality Assessment Scheme).

Relativamente aos parâmetros avaliados segue uma breve explicação sobre cada um deles.

O hemograma é utilizado como auxiliar no rastreio, diagnóstico e monitorização de diferentes patologias, fornecendo informações qualitativas e quantitativas acerca da condição hematológica de um dado doente. O hemograma é um exame complementar de diagnóstico em que se faz a quantificação e avaliação morfológica das células

sanguíneas (eritrócitos, leucócitos e plaquetas). Assim, o hemograma engloba, a avaliação eritrocitária, com contagem de eritrócitos, determinação da concentração de hemoglobina, hematócrito, 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) e avaliação morfológica. Na avaliação dos leucócitos faz-se a contagem total, a avaliação da sua morfologia, e ainda a contagem diferencial, estabelecendo o valor relativo e absoluto dos vários tipos de leucócitos. A avaliação plaquetária inclui a contagem de plaquetas e a determinação dos índices plaquetários, como o volume plaquetário médio (VPM), plaquetócrito (PCT) e “platelet distribution width” (PDW).<sup>(1, 2)</sup>

Os resultados do hemograma são validados segundo critérios específicos do laboratório e em determinadas situações é necessária a realização de um esfregaço sanguíneo e sua coloração para avaliação microscópica da amostra e confirmação de determinados resultados.

A VS é outro parâmetro determinado neste setor. É a medição do grau de sedimentação dos eritrócitos numa amostra de sangue. Tem como princípio a medição da altura da coluna de plasma desprovida de eritrócitos após um determinado período de tempo (Westergreen como metodologia de referência). Esta determinação é muito frequentemente utilizada como indicador de doença, uma vez que normalmente está aumentada em processos inflamatórios.<sup>(3)</sup>

As determinações do PT e APTT permitem a avaliação da hemóstase secundária, que se divide em duas vias principais, a intrínseca ou de contacto e a extrínseca ou dependente do fator tecidual.

A via intrínseca é ativada pelo contacto com o colagénio, e todos os componentes necessários para esta atuar estão presentes no sangue em circulação. A via extrínseca é iniciada pela libertação do fator tecidual e cálcio pelo tecido lesado. Estas duas vias convergem depois originando a via comum a qual conduz à formação de fibrina. Um esquema da hemostase secundária pode ser observado na figura 1.<sup>(4, 5)</sup>

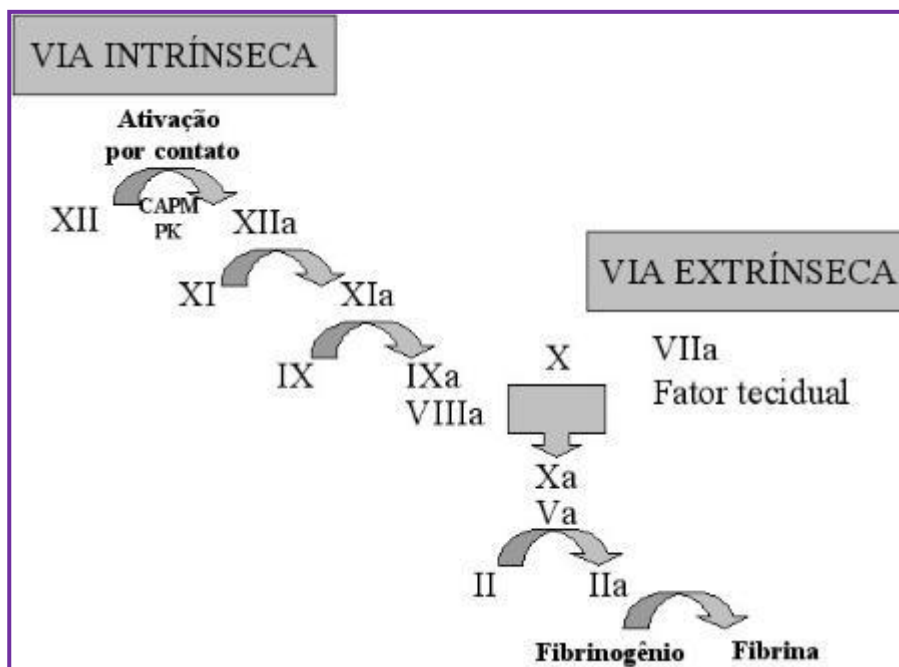


Figura 1 - Esquema representativo da cascata da coagulação.

Adaptado de: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAQsEAG/fisiologia-coagulacao>

O tempo de protrombina explora a via extrínseca e a via comum da coagulação (FVII, II, V, X). É utilizado para avaliar o tratamento anticoagulante com antagonistas da vitamina K, uma vez que é sensível à diminuição dos fatores II, VII e X. O PT mede o tempo de formação do coágulo após adição de tromboplastina cálcica ao plasma. O PT pode também ser representado como valor de INR (razão normalizada internacional), que permite a comparação de resultados em diferentes laboratórios seja qual for a tromboplastina utilizada.<sup>(6, 7)</sup> A fórmula que permite a obtenção do INR é:

$$\text{INR} = \left[ \frac{\text{tempo (seg) PT plasma a testar}}{\text{tempo (seg) PT plasma normal}} \right]^{\text{ISI}}$$

Sendo que ISI é a comparação com a tromboplastina de referência, é o índice de sensibilidade internacional.<sup>(6-8)</sup>

O PT pode estar aumentado em caso de<sup>(6, 9)</sup>:

- Terapia com anticoagulante oral (antagonista da vitamina K)
- Deficiência de fibrinogênio
- Deficiência de protrombina
- Deficiência dos factores V, VII ou X
- Doença hepática

A determinação do APTT é o teste mais utilizado para a exploração dos fatores plasmáticos da via intrínseca. Explora todos os fatores da via intrínseca e via comum, com exceção dos fatores plaquetários. É utilizada para vigiar o tratamento com anticoagulante heparina.<sup>(10)</sup>

O valor de APTT pode estar aumentado em caso de CID (coagulação intravascular disseminada), doença hepática, transfusão sanguínea maciça, tratamento com heparina. Quando o APTT está aumentado e o INR normal pode ser devido a déficit de fator da via intrínseca (FVIII- hemofilia A e FIX – hemofilia B, e de FXI e FXII) ou a anticoagulante circulante (lúpus, poliartrite reumatóide, infecção por HIV). Estes últimos são considerados antiprotrombinases, ou seja não causam hemorragia, mas risco acrescido de trombose.<sup>(5, 9)</sup>

É utilizado um reagente fosfolipídico sintético de elevada qualidade para a determinação *in vitro* do tempo de tromboplastina parcial ativada (APTT) em plasma humano citratado. O produto é utilizado na avaliação da via intrínseca da coagulação, no teste de substituição do APTT e para a monitorização de doentes que se encontram sob terapêutica com heparina.<sup>(11)</sup>

No laboratório Go-Saúde é acompanhado o controlo de medicação com anticoagulantes orais (Sintrom e Varfine) de doentes hipocoagulados, através da determinação do INR. Com base no valor obtido e consoante a patologia do doente (antecedentes de AVC, enfarte miocárdio, prótese valvular, arritmias, etc) é efetuada pelos especialistas um esquema de medicação para o paciente e indicada a data em que este se deverá apresentar novamente no laboratório para nova colheita de sangue e novo controlo de INR.

Quanto à determinação da hemoglobina glicada (HbA1c) é realizada normalmente para controlo glicémico da *Diabetes Mellitus*.

A hemoglobina A1 corresponde a formas de Hb A (principal forma da Hb) carregadas negativamente devido à adição de glicose. A fração A1c da Hb é a que se refere à hemoglobina glicada, cujo terminal valina da cadeia Beta está ligado à glicose por meio de uma ligação estável e irreversível. Este parâmetro, é então utilizado, porque sendo a membrana dos eritrócitos permeável à glicose, a concentração plasmática de glicose e o tempo média de vida dos eritrócitos são os principais determinantes da reação de glicação da proteína em seres humanos. Sendo a média de vida dos eritrócitos de 120 dias, pode-se dizer que a HbA1c (figura 2) é um indicador da média de valores de glicémia nos 120 dias que antecedem à colheita de sangue.<sup>(12, 13)</sup>

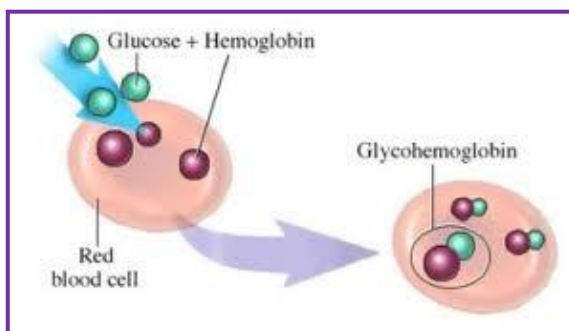


Figura 2 - Imagem ilustrativa da ligação da glicose a hemoglobina. Adaptado de : <http://www.cacetuc.com.ar/2011/08/05/hemoglobina-glicosilada-hba1c/>

O valor de HbA1c é determinado no aparelho HA- Menarini através de HLPC (cromatografia líquida de alta eficiência). A ligação da glicose à Hb altera a carga total da Hb, fazendo com que a fração glicada da Hb migre mais rápido em resinas de troca iônica, permitindo separar assim as diferentes frações da Hb.<sup>(14)</sup>

Valores altos de HbA1c indicam um controlo glicémico alterado (tabela I), ou seja quando o resultado da determinação da HbA1c for superior a 6.5% significa, no caso de um indivíduo diabético, que está com os valores de glicémia descontrolados.<sup>(12, 13)</sup>

Tabela I – Resultados da determinação da HbA1c para a diabetes.

	Valor de HbA1c
<b>Normal</b>	< 5.7%
<b>Pré-diabetes</b>	5.7 – 6.4%
<b>Diabetes</b>	≥ 6.5%

### Setor da Imunologia/Virologia

Neste setor apenas observei o funcionamento do mesmo sem ter participado ativamente na sua rotina.

Na secção da imunologia e virologia a amostra utilizada é preferencialmente o soro e é realizada uma triagem às amostras para verificar a existência de hemólise e lipémia. Se o estado da amostra for sugestivo de interferir com os parâmetros a avaliar, após autorização da direção técnica a amostra é rejeitada e efetuado um novo pedido de colheita.

As amostras entram inicialmente na cadeia Modular ISE/P/E da Roche, para serem processadas para os pedidos de bioquímica e imunologia. Após este passo, são triadas as que necessitam de seguir para o outro equipamento o Cobas e411, da Roche.

O aparelho Modular tem vários módulos de trabalho. O modo E170 da cadeia é um autoanalisador que executa os ensaios por ECLIA (electrochemiluminescence

imunoassay), que tem como base uma reação semelhante à quimioluminescência mas com a aplicação de uma corrente elétrica que induz uma emissão quimioluminescente, posteriormente medida num fotomultiplicador. Por leitura do código de barras, o equipamento identifica as amostras que são colocadas em racks próprias e processa os pedidos.

Neste módulo são executados: DHEA-S (Sulfato de Dehidroepiandrosterona), PTH (paratormona), IgE (imunoglobulina E), ferritina, vitamina B12, folatos, T3 (triiodotiroxina total), T3 livre, T4 (tiroxina total), T4 livre, TSH (hormona estimulante da tireóide), CA125 (antigénio cancerígeno), PSA (antigénio específico da próstata total), PSA livre, HIV, AgHBs (antigénio HBs), AchBs (anticorpo HBs), AchBc (anticorpo HBc). Todos os parâmetros têm calibradores específicos e são calibrados sempre que se inicia um novo lote ou quando não se consegue obter controlos válidos. Todos os testes são controlados diariamente por um dos níveis de controlo e só são executadas amostras após um controlo válido.

No outro aparelho, COBAS e411, o método utilizado é o mesmo que para o Modular E e são executados os seguintes parâmetros: insulina, AchHCV (anticorpo HCV), AgHBe (antigénio Hbe), AchBe (anticorpo HBe), CA15.3 (antigénio cancerígeno), CA19.9 (antigénio cancerígeno), alfa-fetoproteína, progesterona, anticorpo anti-tiroglobulina, Ac TPO (anticorpo anti-tiroperoxidase), LH (hormona luteinizante), FSH (hormona foliculo-estimulante), prolactina, testosterona, estradiol, BHCG (gonadotropina coriónica humana). Alguns dos reagentes dos parâmetros analisados no cobas são guardados no frigorífico e colocados a bordo do aparelho apenas quando pedido. Isto acontece devido à necessidade de gerir o espaço no prato de reagentes. São sempre executados controlos antes de se efetuar as determinações.

No VIDAS, autoanalisador imunoenzimático quantitativo, um terceiro equipamento neste setor, são determinados vários parâmetros por ELFA (enzime linked Fluorescent assay). De acordo com os pedidos, as cassetes das amostras são identificadas com o número de utente e depois é pipetado o respetivo soro (figura 3). A pipetagem manual exige grande concentração do técnico que opera com este equipamento de forma a evitar troca da amostra. Os parâmetros analisados neste aparelho são: vírus Epstein-Barr, citomegalovirus, HAV, HBC, rubéola, toxoplasmose, *Helicobacter Pylori*, cortisol, digoxina, CK-MB. Diariamente são feitas alíquotas dos soros dos pacientes em que se determine a rubéola, toxoplasmose, ou citomegalovirus e são congeladas pelo período de um ano. Este procedimento permite que se conserve o soro durante toda a gestação no caso de grávidas e três meses após o nascimento do bebé. Sempre que se obtém um teste positivo ou duvidoso de IgM da rubéola, toxoplasmose, ou citomegalovirus a



**Figura 3** - Exemplo de cassete para análise no Vidas. Adaptado de: [http://www.biomerieux-nordic.com/servlet/srt/bio/northern/dynPage?open=NTH\\_CLN\\_PRD&doc=NTH\\_CLN\\_PRD\\_G\\_PRD\\_CLN\\_42&pubparams.sform=4&lang=en\\_sw](http://www.biomerieux-nordic.com/servlet/srt/bio/northern/dynPage?open=NTH_CLN_PRD&doc=NTH_CLN_PRD_G_PRD_CLN_42&pubparams.sform=4&lang=en_sw)

amostra é recentrifugada e repetido o parâmetro. Se o resultado se confirmar, é pedida nova colheita e executada a determinação em nova amostra.

Neste setor é efetuado o controlo de qualidade externo RIQAS (Randox International Quality Assurance Scheme).

### Setor da Química Clínica

No setor da química clínica tive oportunidade de participar mais ativamente na rotina laboratorial.

As determinações da bioquímica são executadas no modo ISE e P800 da cadeia Modular. O módulo ISE utiliza elétrodos seletivos de iões para quantificar o sódio, potássio e cloretos que constituem o ionograma. Ocorre uma migração através de uma membrana seletiva e permeável de uma fase de atividade elevada para uma fase de menor atividade. A migração do ião cria uma separação de cargas, ou seja, uma diferença de potencial através da membrana que é diretamente proporcional à concentração do ião na amostra clínica. Através de uma curva de calibração previamente estabelecida no aparelho, com soluções padrão de concentração conhecida do ião a determinar, o aparelho por extrapolação determina a concentração do ião na amostra clínica.

No módulo P são determinados: alfa1-antitripsina, ácido úrico, fosfatase ácida, TGO, TGP, microalbuminúria, albumina, fosfatase alcalina amilase, TASO, bilirrubina direta, bilirrubina total, cálcio, colesterol, CK, creatinina, proteína C reativa, ferro, fosforo, GGT, glicose, HDL, IgA, IgG, IgM, LDH, LDL, magnésio, proteínas totais, proteínas urina, fator reumatóide, triglicérideos, transferrina, ureia, ácido valpróico. Estes parâmetros são determinados por métodos imunoturbidimétricos, colorimétricos, enzimáticos e fotométricos.

Neste aparelho é efetuado um controlo diário e o controlo externo com o RIQAS.

Quando as amostras de sangue chegam a este setor são colocadas em racks no equipamento Modular sem as respetivas tampas dos tubos e este transporta-as para o seu interior onde realiza todas as pipetagens para as determinações necessárias, fazendo em seguida sair o tubo desta cadeia onde fica disponível para ser armazenado. Após o processamento da amostra, os resultados ficam disponíveis no sistema informático do laboratório para validação técnica. Parte destes resultados são validados automaticamente, consoante critérios definidos pelo laboratório. Os resultados com valores alterados, ficam pendentes para que o técnico possa então proceder à sua avaliação. Com base nos critérios em vigor, a amostra pode ter que ser novamente processada para uma repetição e confirmação de um resultado, pode ter que ser centrifugada novamente para voltar a ser processada ou pode ainda ser necessário efetuar o pedido de nova colheita (p.e. amostra hemolisada ou lipémica).

Para além das amostras de sangue também neste setor é realizada a análise de urinas. As urinas de 24 horas (previamente medidas e vertidas para um frasco de amostra de urina, no setor da química urinária ou nos respetivos postos de colheitas) e amostras de urina que exijam determinação bioquímica (microalbuminúria, ácido úrico, proteínas urinárias, entre outras) são também processadas neste setor. A amostra de urina é vertida para um tubo próprio de análise urinária que é colocado em rack específica e entra no equipamento para ser processada da mesma forma que os tubos de sangue. É registado o volume de recolha de urina de 24 horas numa lista de trabalho (o valor vem indicado no frasco de urina) para que o técnico valide manualmente as determinações destas amostras, consoante o volume de recolha que tem que ser introduzido no sistema informático.

No setor da bioquímica foi ainda possível efetuar outros procedimentos que fazem parte da rotina laboratorial, como trocar reagentes, realizar controlos e calibrações, limpeza do aparelho e sua manutenção de final de dia.

Todos os aparelhos dos diferentes setores têm comunicação informática para o programa laboratorial eDeia, para que ocorra a transmissão automática dos resultados. Parte dos resultados são validados automaticamente, mas uma grande parte, quando apresenta resultados fora dos valores de referência ou valores discrepantes é sujeito a uma validação manual pelo técnico responsável pelo setor. Para esta validação manual existem critérios pré-estabelecidos pela direção técnica do laboratório pelos quais os técnicos se devem guiar para saber como proceder. Todos os procedimentos que

possam ser efetuados nesta fase são registados no processo do utente, como por exemplo “Foi pedida nova colheita de amostra. Falei com XX a 06/01/2014 Ass. Daniela”.

No final da rotina de trabalho todos os produtos biológicos são guardados no frigorífico por um período de cerca de 3 dias.

### **Fase Pós-Analítica**

A fase pós analítica corresponde à validação do boletim analítico pelo especialista do laboratório para que este esteja pronto a ser entregue ao utente.

Após a validação técnica de todos os resultados estes ficam disponíveis para uma validação pelo especialista. Este avalia todos os parâmetros em conjunto e valida o boletim analítico. Se houver resultados urgentes ou situações que necessitem de um contacto ao utente ou ao médico, é o especialista quem comunica os resultados.

Após a validação pelo especialista os boletins analíticos ficam disponíveis no sistema informático para poderem ser impressos e entregues ao utente. Esta fase é realizada em cada um dos postos de colheita em que cada rececionista fica encarregue da impressão dos boletins e sua colocação nos envelopes respetivos.

Com um cartão de levantamento, entregue no ato da receção e colheita, o utente pode proceder ao levantamento dos seu exames. Na ausência do cartão de levantamento o boletim apenas pode ser levantado na presença de um documento identificativo do utente e de quem o levanta no caso de não ser o próprio, de modo a garantir a confidencialidade dos dados.

No caso de o utente pretender uma explicação acerca dos resultados das suas análises, este passo é possível realizando uma chamada para o Laboratório Central onde poderá falar com um especialista técnico que o informará devidamente sobre a informação no seu boletim de análises.

## CONCLUSÃO

Com a realização deste estágio foi possível compreender e integrar da melhor forma possível toda a rotina associada ao funcionamento de um Laboratório de Análises. Foi muito vantajoso poder assistir a todos os passos desde a chegada do utente ao posto de colheitas, passando pela recolha das amostras, transporte das mesmas, chegada ao laboratório, seu processamento e por último a entrega do boletim analítico ao utente.

Desta forma foi possível compreender a importância que todos estes passos têm para que o resultado final seja o melhor possível e que todos os intervenientes são muito importantes tendo que assumir responsabilidades que podem influenciar os resultados fornecidos.

A minha participação na rotina deste laboratório foi bastante ativa durante o período de estágio pois todos os funcionários permitiram-me experienciar as diferentes tarefas possíveis de ser realizadas. Sinto assim, que este estágio permitiu melhorar as minhas competências como Técnica de Análises Clínicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bruno J, Miguelote R, Henriques-Coelho T, Leite-Moreira A. HEMOGRAMA 2001:(1-8 pp.). Available from: [http://fisiologia.med.up.pt/Textos\\_Apoio/sangue/Hemograma.pdf](http://fisiologia.med.up.pt/Textos_Apoio/sangue/Hemograma.pdf).
2. QUANTITATIVE HEMATOLOGY: Automated Cell Counters (Internet). Department of Pathology Columbia University College of Physicians and Surgeons - NewYork-Presbyterian Hospital. Available from: [http://www.pathology.columbia.edu/education/residency/quant\\_heme.pdf](http://www.pathology.columbia.edu/education/residency/quant_heme.pdf).
3. Velocidade de Hemossedimentação. Available from: [http://www.labes.com.br/velocidade\\_de\\_hemossedimenta%C3%A7%C3%A3o.htm](http://www.labes.com.br/velocidade_de_hemossedimenta%C3%A7%C3%A3o.htm).
4. Coelho DTH, Moreira PDAL. FUNÇÃO HEMOSTÁTICA E SUA AVALIAÇÃO 2001. Available from: [http://fisiologia.med.up.pt/Textos\\_Apoio/sangue/Hemostase.pdf](http://fisiologia.med.up.pt/Textos_Apoio/sangue/Hemostase.pdf).
5. The blood coagulation cascade (Internet). Bayer Healthcare. Available from: <http://www.bayerpharma.com/en/research-and-development/research-focus/cardiovascular/blood-coagulation/index.php>.
6. Barradas A, Barra A, Gil A. Optimização do uso do complexo de protrombina2011. Available from: <http://repositorio.hff.min-saude.pt/bitstream/10400.10/481/1/Imuno.pdf>.
7. Protrombine time. Available from: <http://www.pathology.vcu.edu/clinical/coag/PT%20INR.pdf>.
8. Sousa JC. Hemostase e Trombose. Lisboa: Boehringer Mannheim; 1995.
9. Patient Resources - General Information on Hemostasis (Internet). University of Illinois - Urbana/Champaign -Carle Cancer Center. Available from: <http://www.med.illinois.edu/hematology/PtClotInfo.htm>.
10. VIVAS WLP. Manual pratico de hematologia. Available from: <http://www.aa.med.br/upload/biblioteca/Manual%20de%20Hematologia.pdf>.
11. TTPA BioClin2013.
12. A1C test (Internet). Mayo Clinic. 2013. Available from: <http://www.mayoclinic.org/tests-procedures/a1c-test/basics/definition/prc-20012585?footprints=mine>.
13. The A1c Test and diabetes (Internet). National institute of diabetes and digestive and kidney diseases. 2014. Available from: <http://www.diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/A1CTest/#1>.
14. HbA1c. Available from: [http://www.invitro.com.br/site\\_arquivos/pdf/hba1c.pdf](http://www.invitro.com.br/site_arquivos/pdf/hba1c.pdf).