



HEMOGRAMA

Diferenciais e Novos Parâmetros

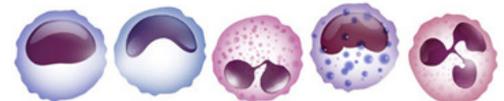
Nas análises de Hemograma, utilizamos a plataforma **SYSMEX XN-3100®**, que inclui a tecnologia de **Citometria de Fluxo (com opção de análise Fluorescente)**, com **repetição automática** de amostras com parâmetros alterados em módulo analítico distinto da primeira leitura, bem como **preparação / coloração de lâminas automatizada**, tornando a revisão por microscopia mais eficiente.

A **elevada sensibilidade e especificidade na diferenciação das populações de células** proporcionada por esta automação, aliada à **capacitação dos profissionais de microscopia** e a outros **procedimentos técnicos internos** do Setor de Hematologia do laboratório, contribuem para que os laudos de Hemograma cada vez mais agreguem valor ao diagnóstico e conduta clínica.

Neste Informe Técnico apresentamos alguns **diferenciais do setor de Hematologia**, bem como alguns **parâmetros adicionais** incrementados nos respectivos laudos.



LEUCOGRAMA

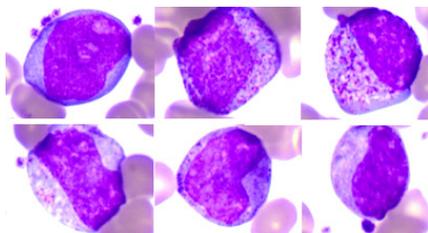


GRANULÓCITOS IMATUROS – IG (Immature Granulocytes):

O incremento de **Granulócitos Imaturos** no sangue periférico pode indicar uma **resposta em estágio inicial à infecção, inflamação ou outros estímulos da medula óssea**.

A **contagem direta de IG circulantes por Citometria** auxilia na discriminação de infecções bacterianas e virais, particularmente em crianças, e no diagnóstico precoce de infecção bacteriana (e sepse) em adultos, de particular importância para pacientes de terapia intensiva e/ou imunossuprimidos. **O parâmetro IG é reportado no Hemograma como porcentagem (%) em relação ao total de Leucócitos**, não diferenciando quais as células presentes (*prómielócitos, mielócitos ou metamielócitos*). Portanto, este parâmetro é **independente da leitura diferencial** (na qual, para fins práticos da clássica soma de “100%”, o valor do IG é contabilizado nos “Neutrófilos”).

Uma **elevação do IG indica a presença de granulócitos imaturos no sangue periférico, ainda que não reportados na contagem diferencial**, pois o parâmetro IG (por citometria) é mais sensível que a microscopia. Por outro lado, a indicação de *Prómielócitos, Mielócitos e/ou Metamielócitos* no Diferencial sem incremento do “IG” deve-se presumivelmente à superestimação destes devido a contagens manuais à microscopia.



ÍNDICE DELTA NEUTRÓFILOS – DNI (Delta Neutrophil Index):

O **DNI** também se constitui num indicador da porcentagem de **granulócitos jovens** circulantes, porém, estimando sua concentração **através de cálculo**, conforme a seguinte fórmula: **DNI = (% NEUTRÓFILOS + % EOSINÓFILOS) – (% SEGMENTADOS)**

Incrementos no DNI também pode sugerir processos inflamatórios/infeciosos.

RELAÇÃO NEUTRÓFILOS / LINFÓCITOS – NLR (Neutrophil-Lymphocyte Ratio):

O **NLR** é obtido com o simples **cálculo da divisão dos Neutrófilos pelos Linfócitos**. Se constitui num biomarcador prático de duas faces do sistema imunológico: a **resposta imune inata**, principalmente devida aos neutrófilos, e a **imunidade adaptativa**, apoiada pelos linfócitos.

Um aumento isolado dos Neutrófilos (e conseqüente elevação do NLR) é um **marcador precoce de stress fisiológico e de resposta inflamatória sistêmica**, podendo ser observado em infecções bacterianas/fúngicas, Derrame, IAM, Aterosclerose, Neoplasias, complicações Pós-cirúrgicas, etc.

ERITROGRAMA



Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos – Desvio Padrão (RDW-SD):

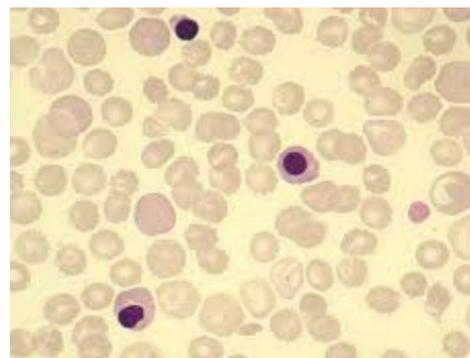
O parâmetro **RDW (Red Cell Distribution Width)** avalia a variação do tamanho dos eritrócitos, e portanto, a **Anisocitose**. Em geral, é reportado nos Hemogramas como **RDW-CV (Coeficiente de Variação)**. Entretanto, o RDW-CV é inversamente proporcional VCM (Volume Corpuscular Médio). Como resultado, pacientes com Microcitose possuem elevado RDW-CV, e aqueles com Macrocitose, reduzido RDW-CV, independente do grau de Anisocitose, prejudicando sua interpretação.

Em nossos Hemogramas incluímos também o **parâmetro RDW-SD (Desvio Padrão)** que não é influenciado pelo VCM, e portanto, é **preferível na interpretação do grau de Anisocitose em casos de**

Micro/Macrocitose. Obs: em amostras com 02(duas) populações de eritrócitos distintas, ambos os parâmetros RDW-SD e RDW-CV são prejudicados, por tratar-se de distribuição irregular (múltiplos “picos”) no Histograma do analisador hematológico.

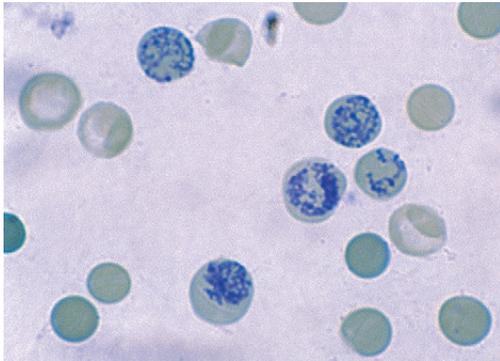
ERITROBLASTOS – Contagem por Citometria:

Tradicionalmente, a presença de Eritroblastos era detectada através de “Flags”(alertas) no analisador hematológico, com contagem realizada através de microscopia e reportada como “porcentagem em 100 leucócitos”. Além disso, era necessária uma “correção”(desconto) manual da contagem leucocitária, tendo em vista que em grande parte dos analisadores hematológicos os Eritroblastos são contados como Leucócitos. Embora a inspeção à microscopia permaneça necessária, o método atual permite a **contagem direta dos Eritroblastos por Citometria**, que é mais sensível/específica, diferenciando-os de



fato das demais células já na leitura automatizada, permitindo que os mesmos sejam devidamente quantificados e reportados na unidade “ $\times 10^3/\text{mm}^3$ ” (também convertida em “eritroblastos/100 leucócitos”, unidade mais familiar à Clínica).

RETICULÓCITOS – Contagem por Citometria / RET-He / IRF:



Da mesma forma como mencionado para os Eritroblastos, o analisador hematológico em nosso setor efetua a **Contagem direta por Citometria dos Reticulócitos**, que tradicionalmente costumavam ser avaliados por contagens manuais ao microscópio (pela técnica de Azul Cresil Brillhante). Assim, são obtidos resultados mais precisos, sendo os Reticulócitos reportados nos laudos como “**Retic./mm³**”, bem como efetuada conversão para que sejam, também, expressos na forma de “*porcentagem por eritrócitos*”.

Adicionalmente, são fornecidos outros 02 parâmetros para Reticulócitos: “**IRF**” e “**RET-He**”.

Fração de Reticulócitos Imaturos – IRF (Immature Reticulocyte Fraction):

O parâmetro **IRF** identifica a **fração de Reticulócitos com elevada concentração de RNA**, e portanto, **imaturos**. Em termos de avaliação da Eritropoiese, podemos comparar a elevação da IRF ao clássico “*desvio a esquerda*” dos leucócitos, ou seja, é um indicativo de demanda/resposta da Medula Óssea, sendo um marcador útil na **avaliação, classificação e acompanhamento terapêutico de Anemias**.

Hemoglobina Reticulocitária – RET-He (Reticulocyte Haemoglobin equivalent):

A medição do **teor de hemoglobina dos reticulócitos (RET-He)** é uma forma de diagnosticar e monitorar a anemia por deficiência de ferro. O **RET-He é uma forma rápida de detectar alterações no estado do ferro**. Uma vez que os eritrócitos têm um período de vida de 120 dias, a detecção de deficiências de ferro e de alterações do estado do ferro da eritropoiese é apenas possível numa fase relativamente tardia, através da utilização de outros parâmetros hematológicos (ex: Hb, VCM, etc.).

Os **marcadores bioquímicos convencionais** para avaliar o estado do ferro, tais como ferro sérico, transferrina ou ferritina **podem sofrer interferência** em quadros de inflamação com resposta de fase aguda ou na presença de outras patologias, em muitos casos prejudicando sua interpretação clínica. Por exemplo, apesar de níveis baixos de ferritina indicarem inequivocamente a falta de ferro, níveis normais ou elevados não permitem esta conclusão sobre a biodisponibilidade do ferro. Na corrente sanguínea, os reticulócitos amadurecem habitualmente num período de dois a quatro dias. A medição do número de reticulócitos é, portanto, uma **medida “em tempo real” da eritropoiese**. A medição do **RET-He permite avaliar a “qualidade” dos eritrócitos com base na quantidade de ferro atual fornecida para sua eritropoiese**.

Fenômeno de Rouleaux (aglomeração de eritrócitos):

Amostras com sinais de **Aglomerados de Hemácias**, como incompatibilidade entre os valores de Hematimetria (RBC, HCM, CHCM) e/ou observação direta na microscopia, são submetidas à **incubação a 37°C em banho-maria**, com o intuito de neutralizar (ou minimizar) os efeitos de possíveis **crioaglutininas/anticorpos**, sendo posteriormente re-analisadas no equipamento para comparação com as leituras originais.

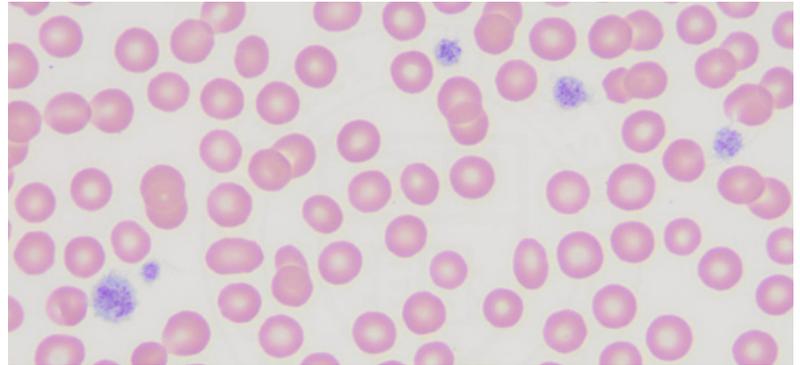
PLAQUETAS



FRAÇÃO DE PLAQUETAS IMATURAS – IPF (Immature Platelet Fraction):

Semelhante ao que ocorre com parâmetros como “Granulócitos Imaturos” e “Reticulócitos”, a **Fração de Plaquetas Imaturas (IPF)** fornece o **status medular da produção de plaquetas**, sendo útil no **diagnóstico diferencial e tratamento da Trombocitopenia**, uma vez que **níveis elevados de IPF estão relacionados ao aumento da destruição plaquetária periférica**.

A **IPF** é particularmente útil para apoiar o diagnóstico de **púrpura trombocitopênica autoimune, púrpura trombocitopênica trombótica e para distingui-las da supressão ou falência da medula óssea** (neste último caso, a IPF é diminuída). O parâmetro IPF também é um **indicador sensível na avaliação da recuperação trombopoética e monitoramento** de pacientes pós-quimioterapia e transplante de células-tronco hematopoéticas, assim como um **critério adicional na avaliação de transfusões de plaquetas**, em casos específicos (Neoplasias, Doenças hematológicas).



As **plaquetas imaturas têm um potencial pró-trombótico aumentado e são mais resistentes à inibição funcional pela aspirina e pelos antagonistas do receptor P2Y12**. Conseqüentemente, tem sido demonstrado que a **IPF pode ser utilizada como uma medida da reatividade plaquetária residual**. Assim, a **IPF serve como um preditor** da eficácia da terapia antiplaquetária e pode ser usada para avaliar o risco de futuros eventos trombóticos cardiovasculares.

Em nosso setor de Hematologia, todas as amostras que apresentam inicialmente **contagem de plaquetas “ inferior a 120.000/mm³ ”** são submetidas a re-análise por **Citometria Fluorescente**, com a liberação da **IPF como parâmetro adicional**.

Em nosso setor de Hematologia, todas as amostras que apresentam inicialmente **contagem de plaquetas “ inferior a 120.000/mm³ ”** são submetidas a re-análise por **Citometria Fluorescente**, com a liberação da **IPF como parâmetro adicional**.

TROMBOCITOPENIAS vs PSEUDOTROMBOCITOPENIAS:

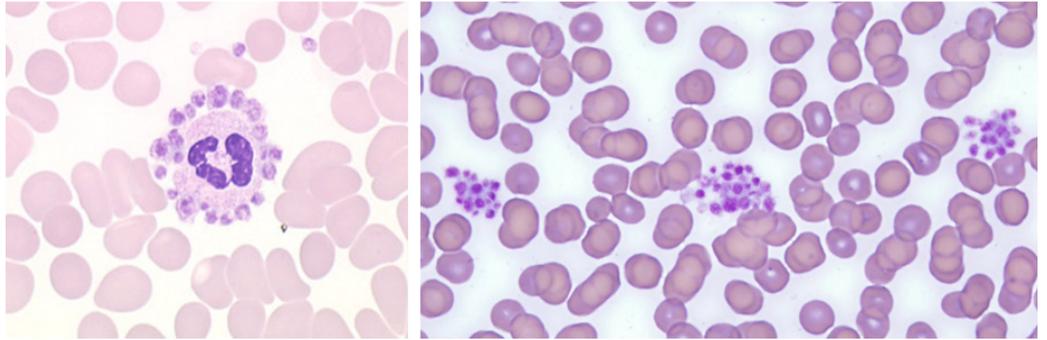
Devido a fatores pré-analíticos, **amostras de sangue total podem apresentar agregação/satelitismo plaquetários**, interferindo em sua contagem In Vitro. Isso decorre por uma combinação de fatores, relacionados ao paciente e à coleta venosa de sangue total. Em laboratório, a **Agregação plaquetária é observada com maior frequência, sendo o Satelitismo raramente presente**.

Amostras que eventualmente apresentem **coágulos/microcoágulos**, embora permitam a obtenção de alguns parâmetros hematológicos para liberação em casos urgentes (por solicitação médica), em geral não são analisadas, sendo objeto de re-coleta.

Embora a coleta de **sangue capilar com imediata confecção de esfregaço sanguíneo** seja uma alternativa para evitar o fenômeno (exceto em casos In Vivo), acarreta que a contagem seja manual por microscopia, que, mesmo realizada com rigor técnico, é menos precisa que a automatizada. E, como veremos a seguir, não costuma ser necessária.

Ao contrário do que é muito difundido, a **coleta de amostra em Citrato ao invés de EDTA pouco contribui** para a obtenção de contagens plaquetárias mais precisas, sendo que, na prática, em amostras com Agregação as **contagens em Citrato são, não raramente, menores que as realizadas em EDTA.**

Conforme mencionado, dentre os diferenciais do método analítico



utilizado no setor, temos a **Citometria Fluorescente, que é mais eficiente em contar Plaquetas, e em especial, quando agregadas.** Ainda assim, em muitos casos, isso não é o suficiente para obtenção de contagens precisas.

Todas as amostras com sinais de agregação plaquetária, tais como “flags”(alertas), filamentos de fibrina, ou constatação por microscopia, são **submetidas a um “tratamento” no setor de Hematologia** do Laboratório, que mostra-se bastante eficiente na obtenção de contagens plaquetárias, e que é pouco conhecido: **Homogeneização em Vórtex.**

A agitação por **Vórtex reduz os agregados plaquetários**, fornecendo contagens mais próximas da realidade fisiológica, sendo estes resultados reportados nos laudos.

Como o **“tratamento” por Vórtex pode acarretar diferentes graus de hemólise** (rompimento de hemácias) na amostra, este procedimento só é **aplicado após todas as demais análises a serem realizadas no mesmo material**, tais como VHS (hemossedimentação), Tipagem Sanguínea e as próprias leituras do Hemograma (Eritrograma e Leucograma) já terem sido realizadas, evitando assim sua interferência.

REFERÊNCIAS (links):

<https://www.sysmex.com/US/en/pages/beyond-a-better-box.aspx>

<https://ijpm.amegroups.org/article/view/6553/html>

<https://www.thebloodproject.com/ufaq/there-are-two-ways-to-report-the-rdw-the-rdw-cv-and-the-rdw-sd-which-should-i-use/#:~:text=As%20a%20result%2C%20patients%20with,may%20be%20preferable%20to%20use.>

<https://www.sysmex.com/la/pt/Company/News/Pages/2014HEMO.aspx>

<https://www.sysmex.se/academy/knowledge-centre/sysmex-parameters/immature-granulocyte-ig-count.html>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7230994/>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34161115/>