

INTERPRETAÇÃO DOS CRITÉRIOS DE LIBERAÇÃO DOS RESULTADOS DE HEMOGRAMA ATRAVÉS DE CONTADORES AUTOMATIZADOS EM LABORATÓRIO DE URGÊNCIA

Ricardo Bandeira

Laboratório de Anatomia Funcional Aplicada à Clínica e à Cirurgia - LAFACC-VQM; Departamento de Anatomia, Instituto de Ciências Biomédicas – USP, São Paulo (SP), Brasil.

Andressa Figueiredo Magalhães

Universidade Ibirapuera – UNIB, São Paulo (SP), Brasil.

Hugo Bastos da Silva de Aquino

Santa Casa de Misericórdia de Santo Amaro, São Paulo (SP), Brasil.

RESUMO: O Hemograma é um exame laboratorial que quantifica e avalia morfológicamente as células do sangue periférico. Os aparelhos de automação oferecem sensibilidade, agilidade e precisão na realização desses hemogramas. Os resultados dos hemogramas considerados normais são liberados diretamente sem revisão de lâmina em microscopia complementar, para um programa de processamento de dados laboratoriais (interfaceamento), após avaliação do analista de laboratório. Foram estudados alguns artigos para avaliar os critérios de liberação dos hemogramas por interfaceamento direto entre os contadores eletrônicos e o setor de liberação e emissão dos laudos, onde foram analisadas lâminas em microscopia, comparando assim com os equipamentos de estudo. O presente trabalho mostrou pelos resultados a alta confiabilidade e precisão dos aparelhos de automação em hematologia, não dispensando a atuação do analista especializado.

PALAVRAS-CHAVE: Automação; Hemogramas; Lâminas; Microscopia.

INTERPRETATION OF CRITERIA FOR THE RELEASE OF BLOOD TESTS RESULTS BY AUTOMATIC COUNTERS IN URGENCY LABORATORIES

ABSTRACT: A blood test is the laboratory exam that quantifies and morphologically assesses the cell of peripheral blood. Automation apparatuses provide sensitiveness, fastness and precision in blood tests. Results of normal blood tests are released directly and without review on complementary microscopy to a program of laboratory data processing after the evaluation of the lab analyst. Several articles were analyzed to evaluate the criteria of release of blood tests by direct interface between electronic counters and the release/emission sector of results. The microscope laminas were compared with the apparatuses studied. Current study showed the high reliability and precision of automatic apparatuses in blood testing even though the analyst's activities are not discarded.

KEY WORDS: Automation; Blood Tests; Laminas; Microscopy.

INTRODUÇÃO

O Hemograma é o exame que avalia quantitativa e qualitativamente os elementos celulares do sangue, é o exame complementar mais requerido nas consultas, fazendo parte de todas as revisões de saúde (FAILACE, 2009).

Segundo Failace (2009), levantamentos feitos evidenciaram repetidamente sua presença na lista de exames em cerca de 48% dos pacientes que coletaram sangue no laboratório. Essa preferência universal denota que o hemograma, além de fundamental na triagem de saúde, é coadjuvante indispensável no diagnóstico e no controle evolutivo das doenças infecciosas, das doenças crônicas em geral, das emergências médicas, cirúrgicas e traumatológicas, e no acompanhamento de quimioterapia e radioterapia, relacionando-se com toda a patologia.

Uma parte importante do exame de hemograma é a contagem diferencial de células, onde se verifica porcentagem das diferentes células da série branca (também conhecidas como leucócitos, células de defesa), sendo assim possível correlacionar as diferentes células em um total de cem células verificadas em um esfregaço sanguíneo.

A contagem das células do sangue tem sido uma informação importante, não somente para o diagnóstico de doenças, mas também como um “atestado de saúde” nos exames periódicos, nos *check-ups*.

A contagem de células do sangue se modernizou nas últimas décadas com a sofisticação tecnológica laboratorial. Exames como hemoglobina/hematócrito, eritrograma, leucograma e contagem de plaquetas foram substituídos pelo hemograma completo, automatizado com contagem diferencial de leucócitos em cinco tipos (neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos), sendo realizado em menos de um minuto em analisadores hematológicos automatizados; assim como informado por Rosenfeld, a análise automatizada permite a detecção de células anormais por meio de alertas (*flags*) para a presença de desvio a esquerda (presença de neutrófilos jovens, como exemplo: blastos, mielócitos, metamielócitos e bastonetes, também conhecidas como células prematuras), linfócitos atípicos reacionais e eritroblastos circulantes, o que determina a confecção de lâminas para a confirmação microscópica, feita pelo profissional (ROSENFELD, 2012).

Atualmente os laboratórios de análises clínicas realizam seus exames com automação utilizando aparelhos de hematologia para liberação de seus exames de hemograma, pois oferecem alta sensibilidade e precisão na qualificação dos resultados. Existem diversos

aparelhos de hematologia disponíveis no mercado. A contagem diferencial dos leucócitos faz parte do hemograma e tem sido realizada de modo automatizado por meio desses aparelhos mais sofisticados; deste modo, a análise total e diferencial das células por estes aparelhos dispensariam a observação humana (FAILACE; PRANKE, 2004).

Os instrumentos automatizados oferecem alta sensibilidade e precisão na quantificação das células sanguíneas. Nesse sentido, o uso da análise diferencial de leucócitos automatizada tem se tornado comum em um grande número de laboratórios.

Desde a década de 80, a tecnologia empregada para realização do hemograma vem sofrendo profundas alterações, principalmente na contagem diferencial de leucócitos (BORGES; SIQUEIRA, 2009).

Os analisadores hematológicos utilizam a tecnologia de citometria de fluxo que traz a sensibilidade necessária para quantificar e diferenciar as classes celulares no sangue total. Segundo Borges, o princípio de citometria de fluxo é baseado no direcionamento dos elementos celulares por tubulação envolvidos por um solvente até passar pelo ponto de análise, onde serão aplicadas as demais tecnologias para quantificação e diferenciação celular, como o laser, corrente sanguínea para impedância e corrente de radiofrequência para determinar a estrutura interna da célula. A citometria de fluxo tradicional, que tem como função contar, examinar e classificar partículas microscópicas em meio líquido em fluxo, é considerado o melhor método para diferenciação de populações de células.

Pelo método de impedância são contados eritrócitos e em diferentes diluições, após lise das hemácias contam-se os leucócitos e as plaquetas; a determinação da hemoglobina por espectrofotometria fornece por divisão eletrônica a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Portanto, os equipamentos fornecem a leucometria, números de hemácias e plaquetas, VCM (volume corpuscular médio), Hematócrito, Hemoglobina, HCM e CHCM (BACALL, 2009).

O exame ao microscópio de distensão sanguínea para hemograma é realizado quando necessário, em amostras selecionadas por critérios previamente

estabelecidos pelos profissionais habilitados em análises clínicas (VELOSO; ALENCAR; CARDOZO, 2011).

Dentro dos casos de revisão manual de lâmina por microscopia óptica, são visualizados os leucócitos, analisando em uma contagem de cem células (série branca) a presença ou não de células imaturas dentre outras variações celulares, tais como a presença de granulações tóxicas nos neutrófilos, inclusões celulares entre outras observações; revisão da contagem de plaquetas manualmente pelo método de Fônio, onde se contam as plaquetas em cinco campos diferentes na lâmina e multiplica pelo valor de eritrócitos, e se necessário averiguar a presença de alterações como agregações e macroplaquetas; para a série vermelha, verificar a presença ou não de inclusões, variação de tamanho, forma e imaturidade celular (AZEVEDO, 2003).

O presente trabalho tem como objetivo comparar e interpretar por estudos de artigos, os resultados liberados por equipamento *versus* a revisão em microscopia feita pelo profissional da área, visando estabelecer a comparação dos *flags* (alerta sugestivo de alterações em contagem, diferenciação e/ou morfologia) liberados pelo equipamento e a liberação automática do hemograma sem a necessidade da interferência do profissional.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Nos trabalhos estudados foram selecionados inclusos, aqueles com amostras de sangue periférico, coletadas em tubos com anticoagulante EDTA, as quais foram processadas em contadores automatizados. Das mesmas foram confeccionadas lâminas para avaliação em microscópica óptica pelos profissionais habilitados do setor de hematologia.

Para a comparação no laboratório local, as amostras foram selecionadas aleatoriamente, priorizando um modelo de teste cego e utilizaram como identificação o código de barras gerado pelo sistema de gerenciamento informatizado dos laboratórios. Para fins do presente trabalho, foram emitidos os resultados liberados pelo equipamento automaticamente e confirmados em lâminas distendidas e coradas pelo analista de

laboratório independente dos âmbitos deste trabalho, não prejudicando a análise do material clínico. As lâminas foram então examinadas pelo mesmo analista para verificar a real presença de alterações, e/ou inclusões, nas linhagens celulares e plaquetárias.

Este trabalho respeitou as normas de ética, bioética e boas práticas laboratoriais, e não possui qualquer conflito de interesse; ainda foi submetido e está sob cobertura de cuidados da comissão interna de biossegurança da Santa Casa de Misericórdia de Santo Amaro (projeto 2913/2013), usando como aparelho citômetro XE2100D, marca sysmex.

2.1 PROCEDIMENTOS TÉCNICOS

Na maioria dos laboratórios os resultados considerados negativos pelo aparelho são normalmente emitidos sem interferência humana com interfaceamento dos resultados para sistema de processamento de dados que transfere os resultados dos exames do equipamento para o sistema de liberação de laudos, e para os hemogramas reprovados pelo aparelho, a distensão de lâminas e exame microscópico são obrigatórios.

As lâminas destinadas para análise microscópica foram analisadas sem os resultados (microscopia sem acesso aos dados); sendo feito como um teste cego, a microscopia foi realizada através de um microscópio óptico comum com ocular de 10 aumentos e objetivas de imersão 50 e 100 aumentos, totalizando um aumento de 500 e 1000x.

A avaliação iniciou-se pela contagem diferencial das células (série branca), realizada em todas as amostras confeccionadas, avaliando-se 100 células; em seguida verificaram série vermelha, focalizando campos onde os eritrócitos não se sobrepõem, sendo observadas as formas, dimensões e coloração. Para verificação das plaquetas utilizaram o método de Fônio, onde as plaquetas foram contadas em 5 campos de aproximadamente 200 eritrócitos e o cálculo estimado de plaquetas foi multiplicado pelo número de eritrócitos por microlitros. Os resultados prévios foram considerados aprovados e reprovados de acordo com a respectiva ausência ou presença de alterações.

Quando preciso, o tratamento estatístico respeitou o nível de significância de 0,05, usando como base os testes paramétricos de variância (ANOVA), com pós-teste de Tukey (MULLER-SCHWEFE, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos laboratórios de hematologia é consenso que os resultados sejam liberados automaticamente por interfaceamento quando não apresentarem nenhuma alteração identificada pelo mesmo, mas é viável que o equipamento acusando algum tipo de *flag* (alerta sugestivo de alterações em contagem, diferenciação e/ou morfologia), sejam feitos esfregaços sanguíneos para verificação em microscopia óptica. A observação obrigatória da distensão sanguínea em amostra onde alterações são indicadas garante a confiança dos resultados do hemograma nos laboratórios de análises clínicas.

A análise feita no trabalho através da microscopia permitiu diversas considerações, na série vermelha analisando os índices hematimétricos, sendo eles VCM, HCM e CHCM, podemos observar que uma porcentagem muito pequena não correlacionou com a análise liberada pelo equipamento. O VCM (volume corpuscular médio) é um índice de tamanho da hemácia, hemácias com VCM abaixo de 80 são consideradas microcíticas; com valores acima de 95, indicam macrocitose; e o VCM é normal nas chamadas hemácias normocíticas. De maneira geral, as alterações no tamanho das hemácias são referidas como anisocitose, (microcitose e macrocitose) (BACALL, 2009).

O HCM (hemoglobina corpuscular média) e o CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) são índices de cor, refletindo a concentração de hemoglobina presente nas hemácias. Valores de CHCM abaixo de 30% indicam hipocromia, condição em que as hemácias estão menos coradas que as normais por apresentarem uma concentração hemoglobínica baixa (ROSENFELD, 2012).

Recentemente, o uso de aparelhos automatizados permitiu a introdução de um novo índice, o RDW - *red cell distribution width*, o qual corresponde à amplitude de distribuição do tamanho das hemácias. Mais um índice de anisocitose, indicando o quanto a população

de hemácias se desvia do tamanho médio, tornando-se muito ou pouco interváriável (BORGES; SIQUEIRA, 2009).

Nos artigos estudados foi possível avaliar que em uma estimativa de 100%, 75% dos hemogramas avaliados foram concordantes com os equipamentos utilizados por cada pesquisa e 25% discordantes.

As causas que levam à não liberação automática de hemogramas, segue na Tabela 1.

Tabela 1. Causas de não concordância com equipamento

CAUSAS	N=	CAUSAS	N=
Baixo valor de E,Hgb e Htc	10%	Anemia	10%
Alto valor de VCM	8%	Neutropenia	15%
Alto valor de RDW	8%	IG Presente	4%
Baixo valor de VCM	3%	Immature Gran	3%
Baixo valor de CHCM	5%	NRBC	9%
Baixo valor de HCM	1%	Left Shift	3%
Leucopenia	5%	Monocitose	2%
Leucocitose	10%	PLT Clumps	2%
Trombocitopenia	4%	Blasts	1%
Trombocitose	3%	Atypical Lympho	4%
Microcitose	2%		
Hipocromia	2%		

Obs.: Immature Gran (granulócitos imaturos), NRBC (eritroblastos), PLT Clumps (agregados plaquetários), Blasts (blastos), Left Shift (desvio à esquerda).

Na Tabela 2 estão descritas algumas alterações visualizadas em lâminas sem acesso aos dados.

Tabela 2. Alterações notadas pela microscopia sem acesso aos dados numéricos.

CAUSAS	N=
Rouleaux	1%
Macrolaquetas	2%
Microcitose	3%
Anisocitose	8%
Atipia Linfocitária	3%
Agregação Plaquetária	1%
Granulação tóxica	5%
Poiqilocitose	4%
Desvio à esquerda	3%

O Quadro 1 apresenta alterações hematológicas que não são identificadas pelos contadores eletrônicos.

Quadro 1. Alterações hematológicas não identificadas pelo equipamento

Eritrograma	Policromasia
	Poiquilocitose
	Rouleaux
	Howell-Jolly
	Pontilhado Basófilo
	Eliptócitos
	Esferócitos
	Acantócitos
	Eritroblastos < 5:100 células
Leucograma	Granulações tóxicas
	Plasmócitos
	D. E. sem neutrofilia
	L. A. sem linfocitose Blastos < 5%

Obs: D. E. (desvio à esquerda), L. A. (Linfócitos atípicos).

A Biomedicina é a ciência voltada para pesquisa de doenças humanas e o hemograma é, na maioria das vezes, o primeiro exame solicitado pelo médico para avaliação de eventual doença e o biomédico por fim tem a responsabilidade de identificar, classificar e estudar as causas correlacionadas com histórico diagnóstico do paciente, sendo assim com precisão para obter um bom entendimento da prática do exame realizado.

A utilização prática da microscopia em todos os hemogramas é economicamente inviável pelo grande número de exames. Se, por um lado, existe a necessidade de redução da observação microscópica devido aos custos, por outro lado, deve-se ter a certeza que os resultados liberados diretamente do equipamento oferecem qualidade satisfatória, sendo assim indispensável mão de obra especializada. Todavia, embora a possibilidade de dispensar a observação microscópica em todos os casos de hemogramas pelo profissional experiente não seja consenso com número de resultados liberados, ou seja, não há uma padronização geral entre laboratórios, é importante ressaltar que os profissionais experientes habilitados para tais práticas são, na maioria, biomédicos

que atuam em parceria com biólogos, bioquímicos e farmacêuticos, tendo assim, posição central em uma estrutura multidisciplinar, o que lhe atribui importância como também responsabilidade no estudo, pesquisa e aprimoramento contínuo, finalizando pelo devido e honesto retorno à sociedade.

Pode-se observar que foram testados alguns equipamentos de automação em hematologia que passou a reduzir 65% a necessidade de examinar as distensões sanguíneas pela microscopia, quanto a esta indicação, sem perda significativa da sensibilidade clínica, e diminuindo os custos gerados pela mão de obra na preparação do esfregaço sanguíneo, não havendo gastos com materiais que são utilizados para obtenção do esfregaço como lâminas, capilares, corantes e óleo de imersão em hematologia, possibilitando ao profissional especialista dar maior ênfase nos casos com necessidade significativas de microscopia, como exemplo, a presença de granulócitos imaturos, blastos, suspeita de grande quantidade de eritroblastos, aumento do parâmetro RDW acima de 20% identificando a presença de alterações nos eritrócitos como acentuada anisocitose (variação de tamanho) ou poiquilocitose significativa (variação na forma), bem como a confirmação dos valores de plaquetas liberadas pelo equipamento podendo ser visualizada a presença de macroplaquetas, agregação plaquetária, trombocitopenia ou trombocitose, avaliando se há ou não a presença de microcoágulos na amostra que pode alterar o resultado do hemograma.

4 CONCLUSÃO

Vários trabalhos na literatura têm mostrado a eficiência e a sensibilidade dos aparelhos de automação utilizados nas rotinas de um laboratório de hematologia.

O presente trabalho mostrou alta correlação quanto à liberação de plaquetas, eritrócitos e leucócitos entre a avaliação automatizada e a microscopia, mostrando alta eficiência em relação a estas contagens.

Os resultados obtidos no trabalho confirmam a sensibilidade e confiabilidade do equipamento de automação, mostrando que o mesmo é importante instrumento nos laboratórios de hematologia, mesmo

assim sendo indispensável a presença do analista para total liberação do laudo final, demonstrando que o clínico possa ter mais segurança no diagnóstico e acompanhamento dos pacientes.

XESeries/Pages/XE-2100-Hematology-Analyzer.aspx>. Acesso em: 25 out. 2013.

Recebido em: 22 de julho de 2014
Aceito em: 02 de novembro de 2014

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, M. R. A. **Hematologia básica: fisiopatologia e estudo laboratorial**. 3. ed. São Paulo: Luana, 2003.

BACALL, N. Analisador automático hematológico e a importância de validar novos equipamentos em laboratórios clínicos. **Rev Bras Hematol Hemoter.**, v. 31, n. 4 p. 218-220, 2009.

BORGES, L. F.; SIQUEIRA, L. O. Validação de tecnologia 5diff do analisador hematológico Sysmex XS-1000i para laboratório de pequeno/médio porte. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 31, n. 4, p. 247-251, 2009.

FAILACE, R. Hemograma: **Manual de interpretação**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

FAILACE, R.; PRANKE, P. Avaliação dos critérios de liberação direta dos resultados de hemogramas através de contadores eletrônicos. **Rev Bras Hematol Hemoter.**, v. 26, n. 3, p. 159-166, 2004.

HEMOGRAMA. Disponível em: <<http://www.faculdademedicina.ufpa.br/doc/Hemograma.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2013.

MULLER-SCHWEFE, G. *et al.* Healthcare utilization of back pain patients: results of a claims data analysis. **J Med Econ.**, v. 14, n. 6, p. 816-823, 2011.

ROSENFELD, R. Hemograma. **J Bras Patol Med Lab.**, v. 48, n. 4, p. 244-245, 2012.

VELOSO, W. A.; ALENCAR, S. M. F.; CARDOZO, S. V. Avaliação dos critérios adotados no interfaceamento dos resultados dos hemogramas automatizados. **Saúde & Amb. Rev.**, Duque de Caxias, v. 6, n. 1, p. 4-10, 2011.

XE-2100™ Automated Hematology System. Disponível em: <<https://www.sysmex.com/la/pt/Products/Hematology/>