

CAROLINA GOMES NAVEGA DA CRUZ

**ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA ENTRE O PERCENTUAL DE
GRANULÓCITOS IMATUROS (IG%) AUTOMATIZADO COM OS
ACHADOS DE PROMIELÓCITOS, MIELÓCITOS E METAMIELÓCITOS
NO ANALISADOR DE MORFOLOGIA CELULAR MC-80 E NA
MICROSCOPIA CONVENCIONAL.**

CAROLINA GOMES NAVEGA DA CRUZ

**ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA ENTRE O PERCENTUAL DE
GRANULÓCITOS IMATUROS (IG%) AUTOMATIZADO COM OS ACHADOS
DE PROMIELÓCITOS, MIELÓCITOS E METAMIELÓCITOS NO
ANALISADOR DE MORFOLOGIA CELULAR MC-80 E NA MICROSCOPIA
CONVENCIONAL.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia do Rio
de Janeiro como requisito parcial para a
obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.

Orientadora: Prof^a Msc. Silvana
Machareth Santiago e Prof. Msc.
Gustavo Carvalho de Castro

Rio de Janeiro
2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Elaborada por Bibliotecária

CIP - Catalogação na Publicação
Bibliotecária: Alane Elias Souza – CRB-7/6321

C955a Cruz, Carolina Gomes Navega da
Análise da concordância entre o percentual de granulócitos imaturos (ig%) automatizado com os achados de promielócitos, mielócitos e metamielócitos no analisador de morfologia celular ~~mc~~-80 e na microscopia convencional. / Carolina Gomes Navega da Cruz - Rio de Janeiro, 2025.
46 f. : il.

Orientação: Silvana Machareth Santiago.

Coorientação: Gustavo Carvalho de Castro.

Trabalho de conclusão de curso (graduação), Bacharelado em Farmácia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Campus Realengo, 2025.

1. Granulócitos imaturos. 2. Hemograma. 3. Contagem de leucócitos. 4. Células sanguíneas. 5. Sepse. I. Santiago, Silvana Machareth, **orient.** II. Castro, Gustavo Carvalho de, **coorient.** III. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro. IV. Título

CDU 615

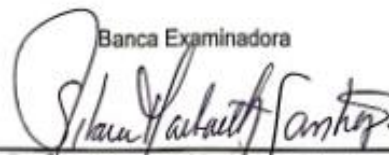
CAROLINA GOMES NAVEGA DA CRUZ

**ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA ENTRE O PERCENTUAL DE
GRANULÓCITOS IMATUROS (IG%) AUTOMATIZADO COM OS ACHADOS
DE PROMIELÓCITOS, MIELÓCITOS E METAMIELÓCITOS NO
ANALISADOR DE MORFOLOGIA CELULAR MC-80 E NA MICROSCOPIA
CONVENCIONAL.**

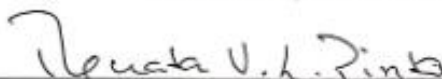
Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Federal do Rio
de Janeiro, como requisito parcial para a
obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.

Aprovado em: 13/03/2025.

Banca Examinadora



Prof.ª Msc. Silvana Machareth Santiago
(Orientadora - IFRJ / Campus Realengo)



Msc. Renata Vieira Lima Pinto
(Membro externo - UERJ)



Esp. Caroline Maciel da Silva Marendaz Souza
(Membro externo - UERJ)

Rio de Janeiro
2025

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por essa conquista. Foi um sonho que tinha desde a minha adolescência, que hoje foi possível graças a sua orientação, encorajamento e a capacitação.

Agradeço também ao meu marido por estar sempre ao meu lado, embarcando em todos os meus sonhos, por orar por mim e por sempre me incentivar não me deixando jamais desistir.

Aos meus pais e irmãos, que sempre acreditaram em mim e sempre me diziam que esse sonho seria possível.

Aos meus orientadores Silvana e Gustavo, bem como, a toda a equipe do setor do laboratório de hematologia por todo acolhimento e disponibilidade durante o meu período de estágio e por se mostrarem profissionais de excelência que me ensinaram a importância de manter a busca por conhecimento e atualizações na área de atuação escolhida sempre visando o bem-estar do paciente.

Agradeço a todos os professores do IFRJ por se permitirem ser grandes instrumentos de conhecimentos.

E estendo esse carinho a todos aqueles que de alguma forma direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste grande sonho.

CRUZ, C.G.N.DA Análise da concordância entre o percentual de granulócitos imaturos (IG%) automatizado com os achados de promielócitos, mielócitos e metamielócitos no analisador de morfologia celular MC-80 e na microscopia convencional. Trabalho de Conclusão de Curso. Graduação em Farmácia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Realengo, Rio de Janeiro, RJ, 2025.

RESUMO

A hematopoiese é o processo de formação, diferenciação e maturação das células sanguíneas. Estas, originam-se do precursor comum, as células tronco hematopoiéticas, que se diferenciam em progenitor mieloide e linfoide. O progenitor mieloide dá origem aos eritrócitos, megacariócitos, monócitos e granulócitos, os quais são subdivididos em neutrófilos, basófilos e eosinófilos, enquanto a linhagem linfoide forma linfócitos T, B e células natural killer. Os granulócitos, apesar de fazerem parte da mesma linhagem de amadurecimento, mostram diferenças na frequência com que suas formas imaturas aparecem no sangue periférico. Enquanto os basófilos e eosinófilos raramente têm suas formas imaturas circulantes, os precursores neutrofílicos são mais frequentemente encontrados. O aparecimento desses granulócitos imaturos, é muito importante clinicamente pois pode indicar indício de presença de sepse, doença considerada um grande desafio para a saúde pública. A contagem automatizada dos granulócitos imaturos em analisadores hematológicos é possível graças a fluorescência e, ela é reportada por meio do parâmetro IG, em números absolutos e em percentual (IG%). Este índice automatizado engloba os mielócitos, metamielócitos e promielócitos. Como a maioria dos equipamentos não são capazes de diferenciar os três tipos celulares, eles identificam através da emissão de alarme(flag) para que o analista realize a revisão microscópica da lâmina. À vista disso, para a presente pesquisa foram selecionados e lidos pela microscopia manual e digital 201 hemogramas automatizados com índice de IG variando de 0% a 20%, que continham flag de “granulócitos imaturos?”. Esta teve como objetivo geral analisar, por meio de métodos estatísticos, a correlação e a concordância da contagem entre o parâmetro de IG% emitido pelo analisador hematológico BC-6200(Mindray) com os granulócitos imaturos identificados na leitura microscópica convencional e na digital, utilizando o MC-80. Concomitantemente os objetivos específicos consistiram, primeiramente, na mesma avaliação estatística, porém, desta vez, entre a contagem de granulócitos imaturos encontrados nas leituras microscópicas e, posteriormente, na avaliação da ocorrência de falsos positivos do flag de “granulócito imaturo”, em comparação com os granulócitos imaturos contados pela microscopia convencional e digital. Os resultados mostraram que as correlações observadas não são estatisticamente significativas, visto que, p-valor foram > 0,001 para cada uma das análises. Também não houve concordância substancial em nenhuma das avaliações. Em relação ao flag emitido pelo equipamento, foi possível observar que nem sempre ele foi confirmado na contagem diferencial pela microscopia convencional e no scanner digital. Concluiu-se que, embora o sofisticado equipamento BC-6200 contribuía para a rotina laboratorial, não é recomendável sua substituição total da contagem microscópica em amostra com alarme de granulócitos imaturos. Da mesma forma, notou-se que o MC-80 deve ser utilizado de forma complementar e não substitutiva à avaliação microscópica manual, considerada padrão ouro.

Palavras-chave: Granulócitos imaturos. Hemograma. Contagem de leucócitos. Células sanguíneas. Sepse. Automação laboratorial.

CRUZ, C.G. N. DA. Análise da concordância entre o percentual de granulócitos imaturos (IG%) automatizado com os achados de promielócitos, mielócitos e metamielócitos no analisador de morfologia celular MC-80 e na microscopia convencional. Trabalho de Conclusão de Curso. Graduação em Farmácia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Realengo, Rio de Janeiro, RJ, 2025.

ABSTRACT

Hematopoiesis is the process of formation, differentiation and maturation of blood cells. These originate from the common precursor, hematopoietic stem cells, which differentiate into myeloid and lymphoid progenitors. The myeloid progenitor gives rise to erythrocytes, megakaryocytes, monocytes and granulocytes, which are subdivided into neutrophils, basophils and eosinophils, while the lymphoid lineage forms T and B lymphocytes and natural killer cells. Granulocytes, despite being part of the same maturing lineage, show differences in the frequency with which their immature forms appear in peripheral blood. While basophils and eosinophils rarely have their immature forms circulating, neutrophilic precursors are more frequently found. The appearance of these immature granulocytes is very important clinically as it may indicate signs of the presence of sepsis, a disease considered a major challenge for public health. The automated counting of immature granulocytes in hematological analyzers is possible thanks to fluorescence and is reported using the IG parameter, in absolute numbers and in percentage (IG%). This automated index encompasses myelocytes, metamyelocytes and promyelocytes. As most equipment is not capable of differentiating the three cell types, they identify them by issuing an alarm (flag) so that the analyst can perform a microscopic review of the slide. In view of this, for the present research, 201 automated blood counts with GI index varying from 0% to 20% were selected and read by manual and digital microscopy, which contained the "immature granulocytes?" flag. The general objective of this study was to analyze, through statistical methods, the correlation and agreement of the count between the IG% parameter issued by the BC-6200 hematological analyzer (Mindray) with the immature granulocytes identified in conventional and digital microscopic reading, using the MC-80. At the same time, the specific objectives consisted, firstly, of the same statistical evaluation, however, this time, between the count of immature granulocytes found in microscopic readings and, subsequently, in the evaluation of the occurrence of false positives of the "immature granulocyte" flag, in comparison with the immature granulocytes counted by conventional and digital microscopy. The results showed that the observed correlations are not statistically significant, since p-values were > 0.001 for each of the analyses. There was also no substantial agreement in any of the assessments. Regarding the flag emitted by the equipment, it was possible to observe that it was not always confirmed in the differential count using conventional microscopy and the digital scanner. It was concluded that, although the sophisticated BC-6200 equipment contributed to the laboratory routine, it is not recommended to completely replace the microscopic count in a sample with an alarm of immature granulocytes. Likewise, it was noted that the MC-80 should be used as a complement and not as a substitute for manual microscopic evaluation, considered the gold standard.

Key words: Immature granulocytes. Blood count. Leukocyte count. Blood cells. Sepsis. Laboratory automation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGM	Aorta-Gônadas-Mesonefros
BFU-E	Unidade Formadora de Colônias Eritroides
CFU-E	Unidades Formadoras de Colônias Eritroides
CFU-GEMM	Unidades Formadoras de Colônias granulocítica, eritroide, monocítica e megacariocítica
CFU-GM	Unidade Formadora de Colônias de Granulócitos e Monócitos
CFU-Meg	Unidade Formadora de Colônias de Megacariócitos
CFUs	Unidades Formadoras de Colônias
CTHs	Células-tronco hematopoiéticas
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
GB	Glóbulos Brancos
G-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos
GM-CSF	Fator estimulador de granulócitos e macrófagos
ICSH	International Society for Laboratory Hematology
IG	Parâmetro de Granulócitos Imaturos
ILAS	Instituto Latino-Americano de Sepse
M-CSF	Fator estimulador de colônia monocítica
MO	Medula óssea

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Hematopoiese

Figura 2. Exemplos de resultados através de citogramas, histogramas e contagens numéricas fornecidos pelos analisadores hematológicos.

Figura 3. Tecnologia de análise celular SF- Cube.

Figura 4. Gráfico de dispersão do DIFF do analisador hematológico BC-6200

Figura 5. Gráfico de dispersão da contagem entre o parâmetro IG% obtido através do analisador hematológico BC-6200 (Y) e os granulócitos imaturos contabilizados pela microscopia convencional (X). N= 201 amostras.

Figura 6. Gráfico de dispersão da contagem entre o parâmetro IG% obtido através do analisador hematológico BC-6200(Y) e os granulócitos imaturos no MC-80 (X). N= 201 amostras.

Figura 7. Gráfico de dispersão entre a contagem de granulócitos imaturos obtidos através da microscopia convencional(Y) e pelo scanner digital MC-80 (X). N= 201 amostras

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Série leucocitária, que corresponde ao Grupo de GB – Glóbulos Brancos

Tabela 2. Resultados do teste de ICC (N=201 amostras)

Tabela 3. Confirmação dos flags emitidos pelo analisador hematológico BC-6200 comprovados pela microscopia e scanner digital MC-80

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 HEMATOPOIESE	12
1.2 HEMOGRAMA	17
1.2.1 Leucograma	17
1.3 AUTOMAÇÃO DO HEMOGRAMA	18
1.4 AUTOMAÇÃO DO HEMOGRAMA NA AVALIAÇÃO DOS GRANULÓCITOS IMATUROS	21
1.5 AVALIAÇÃO DO HEMOGRAMA NA SEPSE	21
1.6 OBJETIVO GERAL	22
1.7 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
2 DESENVOLVIMENTO	23
2.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS LEUCÓCITOS POLIMORFONUCLEARES	23
2. 1 .1. Neutrófilos	23
2. 1. 2 Bastonetes	23
2. 1. 3 Eosinófilos	24
2. 1. 4 Basófilos	25
2.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS LEUCÓCITOS MONONUCLEARES	25
2. 2.1 Monócitos	26
2.2.2 Linfócitos	26
2.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS GRANULÓCITOS IMATUROS	27
2. 3.1 Promielócitos	27
2. 3 .2 Mielócitos	28
2. 3. 3 Metamielócitos	28
2. 4 ANALISADOR MORFOLÓGICO DIGITAL MC-80	29
2. 4 .1 Microscópio	29
2. 4 .2 Câmera digital de alta qualidade	29
2. 4 .3 Software especializado	29

2. 5 AS VANTAGENS DO MC-80 EM RELAÇÃO À CONTAGEM MANUAL DE CÉLULAS SANGUÍNEAS.....	30
3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 A COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE E A SELEÇÃO DAS LÂMINAS.....	31
3.2 -ANÁLISE MICROSCÓPICA PARA A IDENTIFICAÇÃO DE GRANULÓCITOS IMATUROS.	32
3.3 - CONTAGEM AUTOMATIZADA DE GRANULÓCITOS IMATUROS COM O ANALISADOR BC-6200	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

1.1 HEMATOPOIESE

A hematopoiese define-se como o processo de formação, diferenciação e maturação das células sanguíneas. São elas: eritrócitos, plaquetas e leucócitos. Nos seres humanos, esse processo inicia trinta dias após a formação do embrião e estende-se de forma ininterrupta durante toda a vida do indivíduo, tendo como célula base as células-tronco hematopoiéticas (CTHs), também conhecidas como *stem cells* que estão presentes na medula óssea (MO) (LORENZI, 2006; MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2013).

Durante a vida intrauterina, as CTHs inicialmente situam-se no saco vitelínico, onde são produzidas as primeiras células sanguíneas, os eritrócitos. Já na fase definitiva ou adulta, que acontece a partir da quarta semana de gestação, as CTHs encontram-se em uma região do mesoderma chamada Aorta-Gônadas-Mesonefros (AGM), onde as CTHs adquirem também a capacidade de originar outras linhagens hematopoiéticas (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2013).

Por volta da sexta semana de gestação, a hematopoiese passa a ser responsabilidade do fígado, função esta compartilhada com o baço até que o feto complete entre seis e sete meses. Posteriormente a este período de vida fetal, a medula se torna o principal órgão hematopoiético e, a partir daí, se mantém durante toda a vida extrauterina. Entretanto, é válido destacar que, em alguns casos patológicos, o fígado e baço podem retomar a função hematopoiética fetal, mesmo que esses indivíduos acometidos estejam na fase adulta. Este mecanismo compensatório do organismo é denominado de hematopoiese extramedular (PAIVA; REGO, 2013).

Nos primeiros dois anos de vida, a medula óssea de quase todos os ossos participa ativamente da hematopoiese. No entanto, com o crescimento do indivíduo, a hematopoiese vai perdendo a sua capacidade de produção celular. Isto se dá pelo tecido hematopoiético ser gradualmente substituído por tecido adiposo, limitando-se, na fase adulta, ao esqueleto central e às extremidades proximais do fêmur e úmero (HOFFBRAND; MOSS, 2018; PAIVA; REGO, 2013).

Para que na hematopoiese ocorra uma constante proliferação celular (*turnover*), desde a vida uterina até fase adulta, será necessária a existência de microambiente medular propício ou estroma composto da presença de células não hematopoiéticas, representadas pelos fibroblastos, osteoblastos, osteoclastos, células-tronco mesenquimais, adipócitos, macrófagos e células endoteliais dos sinusoides medulares, além de fatores de crescimento e citocinas específicas para cada linhagem celular (PAIVA; REGO, 2013).

As CTHs são células multipotentes que têm tanto a capacidade de auto-renovação, isto é, elas, por si só, são capazes de gerar cópias idênticas de si mesmas, mantendo sua população em níveis regulares ao longo da vida, quanto de se diferenciar, dando origem às duas células progenitoras: mieloide e linfoide, a depender da resposta aos estímulos que recebem dos fatores de crescimento e citocinas. Consequentemente, estas, por sua vez, vão produzir todas as células do sangue e do sistema imunológico (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2013; CRISMA; NAKAJIMA; FOCK, 2017).

A linhagem mieloide vai gerar as chamadas Unidades Formadoras de Colônias (CFUs), entre elas a CFU-GEMM (Unidades Formadoras de Colônias granulocítica, eritroide, monocítica e megacariocítica), que é capaz de se diferenciar dando origem aos eritrócitos, megacariócitos, monócitos e granulócitos, os quais são subdivididos em neutrófilos, basófilos e eosinófilos, enquanto a linhagem linfoide forma linfócitos T, B e células natural killer. Os processos de diferenciação e maturação dessas células produzidas, antes de serem liberadas no sangue, são denominados eritropoese, trombocitopoese, monopoese e granulopoese e linfopoese, respectivamente, os quais serão detalhados a seguir (DA SILVA et al.; 2015).

O desenvolvimento dos eritrócitos inicia-se na célula progenitora CFU-GEMM, que origina a Unidade Formadora de Colônias Eritroides (BFU-E), no inglês (*burst-forming unit-erythroid*), onde *burst* significa explosão. Esta, por sua vez, dá origem às Unidades Formadoras de Colônias Eritroides (CFU-E) até chegar o pró-eritroblasto, que é o primeiro precursor eritroide que é identificável na medula óssea. A partir desse estágio, ocorre a proliferação e maturação dos eritroblastos, fenômeno este conhecido como eritropoese, que é regulado pela eritropoetina. É importante ressaltar que, para uma eritropoese eficaz, também serão necessários ácido fólico e vitamina B12, para

que haja a proliferação celular, e ferro, que tem como função sintetizar a hemoglobina, que é a proteína presente no interior dos eritrócitos (CALADO; FALÇÃO, 2013; HOFFBRAND; MOSS, 2018; DA SILVA et al.,2015).

Na eritropoese, conforme cada divisão celular ocorre, conta-se com uma redução no tamanho celular, na relação núcleo/citoplasma, condensação da cromatina, diminuição progressiva de RNA no citoplasma e aumento do conteúdo de hemoglobina, resultando-se, então, na formação dos eritroblastos basófilos, policromáticos e ortocromáticos, seguidos pelos reticulócitos, etapa em que ocorre a expulsão do núcleo, até culminar nos eritrócitos maduros. Em condições normais, os eritrócitos têm uma sobrevivência no sangue periférico de aproximadamente 120 dias, enquanto os reticulócitos circulam entre 1 ou 2 dias antes de se tornar um eritrócito maduro. Um adulto saudável é capaz de produzir cerca de 200 bilhões de eritrócitos por dia (CALADO; FALÇÃO, 2013; HOFFBRAND; MOSS, 2018).

O processo de formação das plaquetas é conhecido por trombocitopoese. Elas são fragmentos dos megacariócitos. Nesse processo, a célula progenitora CFU-GEMM forma a Unidade Formadora de Colônias de Megacariócitos (CFU-Meg), que se diferencia em megacarioblastos. Estes, ao serem estimulados pela trombopoetina e pelas interleucinas, IL-3, IL-6 e IL-11, formam e amadurecem os megacariócitos que irão sofrer várias endomitoses para a formação das plaquetas (HOFFBRAND; MOSS, 2018)

Cada megacariócito tem a capacidade de formar milhares de plaquetas. Quando formadas, cerca de 70%, se encontram na corrente sanguínea no decorrer de 7 a 10 dias. Passado esse intervalo, as plaquetas são removidas do sangue periférico por células do sistema reticuloendotelial, macrófagos ou monócitos e são conduzidas ao baço, onde são destruídas. Os 30% restantes dessa população permanecem no baço sendo liberadas conforme a necessidade (HOFFBRAND; MOSS, 2018, GONÇALVES, 2019)

Da mesma forma, a monopoese e granulopoese também têm origem na CFU-GEMM, que se diferencia em Unidade Formadora de Colônias de Granulócitos e Monócitos (CFU-GM), responsável pela produção de monócitos e granulócitos. Os monócitos são derivados dos monoblastos e pró-monócitos. Para que haja a sua

produção e maturação é necessária a ação de algumas citocinas e fatores de crescimento, como IL-3, IL-6, GM-CSF, bem como do fator estimulador de colônia monocítica (M-CSF). A partir do momento em que os monócitos são liberados da medula óssea para o sangue periférico, estes permanecem circulantes entre oito a nove horas antes de migrarem para os tecidos por diapedese. Ao chegarem nos tecidos, eles se diferenciam em macrófagos e, assim, desempenham sua atividade fagocitária (CRISMA; NAKAJIMA; FOCK, 2017; ZAGO, 2013).

Os granulócitos se desenvolvem a partir dos mieloblastos, que, por divisão celular, geram os promielócitos. Estes, por sua vez, dividem-se para formar os mielócitos, compondo o compartimento mitótico ou proliferativo. Esses tipos celulares são pouco encontrados em circulação de indivíduos em condições normais. Na sequência, os mielócitos diferenciam-se em metamielócitos, células que não se dividem mais, ou seja, células que perdem a capacidade proliferativa e, portanto, representam o início do compartimento de maturação ou de armazenamento. Em seguida, os metamielócitos amadurecem em bastonete ou bastão e este, por fim, em células maduras segmentadas. Toda essa cinética dos granulócitos é acompanhada por mudanças na morfologia celular, que será detalhada mais adiante neste trabalho. Todo esse desenvolvimento acontece entre 10 a 14 dias e há a participação do fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), interleucinas e fatores de crescimento, como IL-3, IL-6, GM-CSF (CRISMA; NAKAJIMA; FOCK, 2017; DA SILVA et al., 2015)

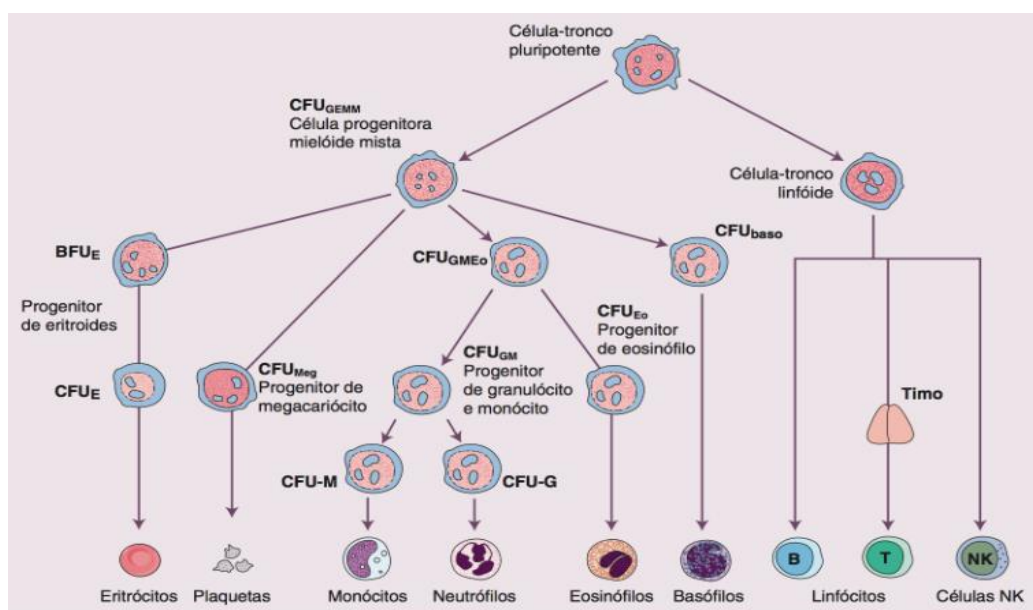
Os granulócitos, embora façam parte da mesma linhagem de amadurecimento, apresentam diferenças na frequência com que suas formas imaturas aparecem no sangue periférico. Enquanto os basófilos e eosinófilos raramente têm suas formas imaturas circulantes, os precursores neutrofílicos são mais frequentemente encontrados. Este surgimento é muito importante clinicamente, pois ocorre em resposta a determinadas condições fisiológicas como gravidez e período neonatal, ou, ainda, estar associadas a algumas condições patológicas do organismo, como sepse, infecção bacteriana, uso de esteróides, patologias inflamatórias agudas, neoplasias mieloproliferativas e traumas cirúrgicos (HOFFBRAND; MOSS, 2018; BAIN, 2016; DA SILVA; PIMENTEL; NASCIMENTO, 2022; PEREIRA, 2017).

A linfopoese é o processo que resulta na formação dos linfócitos B, T e células NK, a partir dos linfoblastos e pró-linfócitos, estes precusores não são encontrados no sangue periférico em condições normais. Tal processo é regulado por interleucinas, tais como IL-7, IL-6, IL-2, IL-3, sendo as duas primeiras essenciais na proliferação dos precusores de linfócitos B e as duas últimas, dos precusores de células T (PAIVA; REGO, 2013; LORENZI, 2006).

Os linfócitos têm origem na medula óssea, onde ocorre a maturação das células B. No entanto, a diferenciação dos linfócitos T acontece no timo. Na vida pós-natal, a medula e o timo são os órgãos linfoides primários, onde a maturação é contínua. No entanto, os tecidos linfoides também podem ser classificados em órgãos linfoides secundários ou periféricos, que são compostos pelo baço, pelos linfonodos e pelo tecido linfóide associado aos tratos digestivo e respiratório (FALCÃO; VOLTARELLI; MALMEGRIM, 2013).

Depois de concluída sua maturação nos órgãos linfoides primários, os linfócitos B e T vão para a corrente sanguínea, mesmo sem ainda terem sofrido estimulação antigênica. Em seguida, estes, migram para órgãos linfoides secundários, fixando-se em sítios específicos onde se dá a estimulação antigênica e, assim, atuarem na resposta imune (CALADO; FALCÃO, 2013).

Figura 1- Hematopoiese



Fonte: HOFFBRAND; MOSS, 2018.

1.2 HEMOGRAMA

O hemograma é um exame laboratorial que objetiva avaliar de forma quantitativa e morfológica os elementos figurados presentes no sangue periférico. Tem sido o exame mais utilizado por médicos de todas as especialidades na avaliação clínica dos pacientes e na obtenção de diagnóstico, que pode ou não estar relacionado a doenças hematológicas (DA SILVA; PIMENTEL; NASCIMENTO, 2022; FAILACE; FERNANDES, 2015).

A análise desse material sanguíneo é feita a partir da coleta de uma amostra de sangue periférico em um tubo com EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), que é o anticoagulante de escolha. Esse quelante polidentado atua sequestrando o cálcio plasmático disponível, inibindo a cascata de coagulação. Ele é o mais usado, pois conserva as características morfológicas das células presentes nas amostras coletadas, conferindo maior precisão na avaliação desses elementos. (MUNHOZ; et al., 2017 e COMAR; PASQUINI, 2013).

Esse exame é realizado através de duas técnicas distintas: manual ou automatizada. No processo, avaliam-se os três principais grupos celulares: eritrócitos (também conhecidos como hemácias), leucócitos e plaquetas, que correspondem ao eritrograma, leucograma e plaquetograma, respectivamente (COMAR; PASQUINI, 2013; LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024; FAILACE; FERNANDES, 2015).

Neste trabalho, foram considerados somente os resultados dos leucogramas, visto que os granulócitos imaturos são avaliados na análise da série leucocitária.

1.2.1 Leucograma

Leucograma é uma parte do hemograma que fornece a contagem global e diferencial de leucócitos. Estes, também chamados de glóbulos brancos, representam um grupo diversificado de células sanguíneas que exercem funções variadas que, em conjunto, compõem o sistema imunológico, atuando na defesa do organismo (CALADO; FALCÃO, 2013; LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024).

Na maioria dos analisadores hematológicos, os leucócitos são diferenciados em cinco subpopulações: basófilos, eosinófilos, neutrófilos (incluindo os bastões), linfócitos e monócitos. Já as células da linhagem granulocíticas anteriores aos

bastonetes, que incluem os mielócitos, metamielócitos e promielócitos são consideradas como células anormais sendo sinalizadas por meio de alertas, os denominados flags (RAO; MICHAEL SNYDER, 2022; BAIN, 2016; PEREIRA, 2017).

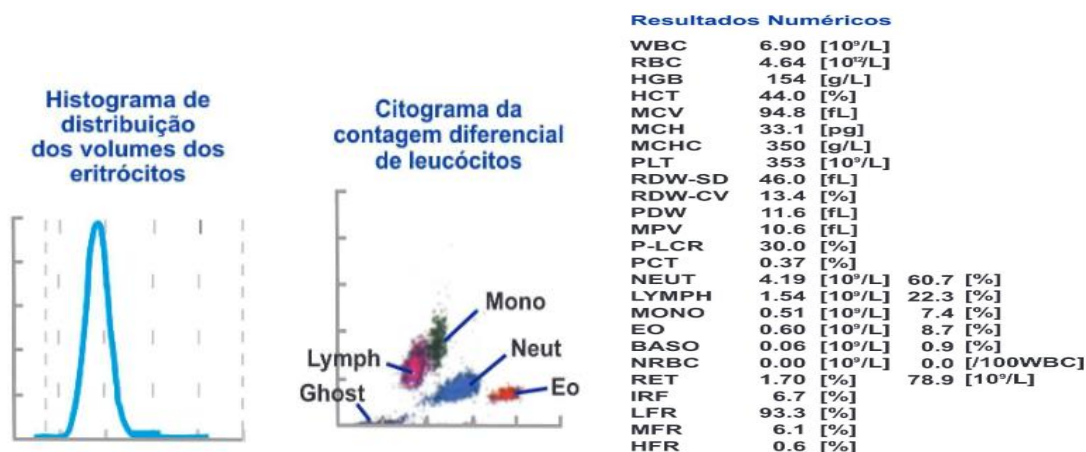
Em condições normais, o intervalo de referência nos adultos para a contagem global de leucócitos é de 4.000 a 10.000 por milímetros cúbicos. Valores superiores a 11.000/mm³ são denominados leucocitose, e inferiores a 4.000/mm³ são denominados leucopenia. Para crianças de diferentes faixas etárias e lactentes esses valores são diferentes. Na leucocitose pode haver um aumento na contagem absoluta de neutrófilos, linfócitos, monócitos, basófilos, eosinófilos ou na combinação de dois ou mais deles, porém cabe destacar que a principal causa de leucocitose é a neutrofilia, isto é, o aumento do número de neutrófilos circulantes acima de 7.000/mm³, que pode ocorrer em decorrência de doenças hematológicas ou não hematológicas, (RAO; MICHAEL SNYDER, 2022; HOFFBRAND; MOSS, 2018; MELO; RESENDE; GAIOLLA, 2013)

1.3 AUTOMAÇÃO DO HEMOGRAMA

Nas últimas décadas, foram comercialmente disponibilizados diversos analisadores hematológicos. Estes equipamentos vêm substituindo, na rotina dos laboratórios, os métodos manuais, apresentando diversas vantagens, como uma maior eficiência nas análises das amostras, proporcionada pelo uso de esteiras e processadores de esfregaços e coloração de lâminas, e maior precisão e exatidão além da sua capacidade de mensurar parâmetros que antes não eram possíveis de serem expressos (OLIVEIRA, 2018; COMAR; PASQUINI, 2013).

Os analisadores modernos são totalmente automatizados. Eles aspiram e diluem um volume reduzido de amostra sanguínea por análise. Para isso, utilizam-se de diferentes metodologias ou de uma combinação delas, cujas formas de expressão dos resultados são através de histogramas, citogramas e contagens numéricas em porcentagem ou como valores absolutos. (FAILACE; FERNANDES, 2015; COMAR; PASQUINI, 2013).

Figura 2- Exemplos de resultados através de citogramas, histogramas e contagens numéricas fornecidos pelos analisadores hematológicos.



Fonte: ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2013

Quando se trata de contar leucócitos, eritrócitos, plaquetas, assim como para realizar contagem diferencial de leucócitos, com a presença apenas de células típicas, ou seja, células maduras, os analisadores hematológicos têm se mostrado mais precisos do que a contagem manual por microscopia, visto que esses avaliam e contam, por diversas tecnologias, milhares de células, ao invés de 100, e, às vezes, 200, como tipicamente se realiza por amostra. No entanto, avaliação microscópica continua, a ter a sua importância quando há presença de células imaturas na amostra como os granulócitos imaturos (COMAR; PASQUINI, 2013; MUNHOZ; et al., 2017).

No que diz respeito à utilização, os analisadores hematológicos têm contribuído para a diminuição da quantidade de lâminas lidas manualmente, visto que auxiliam na separação das amostras de acordo com critérios previamente estabelecidos pelo laboratório no banco de dados do sistema computacional do equipamento. Esses critérios são definidos de acordo com o perfil da população atendida no local (FAILACE; PRANKE, 2004; ESCOUTO, 2020).

Dessa forma, as amostras que apresentam contagens de células sanguíneas alteradas ou alarmes gerados pelo equipamento necessitarão de revisão de lâmina. O próprio sistema direciona tais amostras para a confecção e coloração de lâminas, que serão liberadas somente após analisadas sob microscopia, para a confirmação do resultado ou para fornecer informações adicionais àquelas geradas pelos analisadores, o que assegura a confiança dos resultados do hemograma. Para um hemograma de qualidade, as lâminas, sejam elas preparadas manualmente ou em processadores automáticos, precisam estar bem confeccionadas, coradas e serem

lidas numa região adequada de avaliação para que seja possível a correta identificação celular durante a análise microscópica (FAILACE; FERNANDES, 2015; PNCQ, 2021; COMAR; PASQUINI, 2013; CRISMA; NAKAJIMA; FOCK, 2017).

Por outro lado, as amostras que não apontam alterações quantitativas nem a presença de flags são liberadas diretamente por meio de interfaceamento automático do laboratório sem a necessidade adicional da verificação microscópica da extensão sanguínea (FAILACE; PRANKE, 2004; FAILACE; FERNANDES, 2015; PNCQ, 2021).

Para este trabalho foi utilizado o aparelho BC-6200 da Mindray, que analisa até 110 amostras por hora e oferece 37 parâmetros para apoio ao diagnóstico. Neste, a evolução das combinações de tecnologias como a impedância, citometria de fluxo e os sinais de fluorescência do conteúdo de DNA/RNA do núcleo celular permitiu a realização da contagem e análise da diferencial leucocitária, que inclui o parâmetro de granulócitos imaturos (IG) (MINDRAY, 2018).

Tabela 1- Série leucocitária, que corresponde ao Grupo de GB – Glóbulos Brancos

Nome	Abreviação
Contagem de glóbulos brancos	WBC
Número de basófilos	Bas#
Porcentagem de basófilos	Bas%
Número de neutrófilos	Neu#
Porcentagem de neutrófilos	Neu%
Número de eosinófilos	Eos#
Porcentagem de eosinófilos	Eos%
Número de linfócitos	Linf#
Porcentagem de linfócitos	Linf%
Número de monócitos	Mon#
Porcentagem de monócitos	Mon%
Número de granulócitos imaturos	IMG#
Porcentagem de granulócitos imaturos	IMG%

Fonte: Tabela adaptada do manual do operador, 2018.

O equipamento pode ser integrado a sistemas automatizados de distensão e coloração de lâminas como o SC-120 e de análise de células como o MC-80, que é uma alternativa no mercado em termos de identificação morfológica das células. Essa integração possibilita a automação completa do hemograma (KHONGJAROENSAKUN et al., 2023; MINDRAY, 2018).

1.4 AUTOMAÇÃO DO HEMOGRAMA NA AVALIAÇÃO DOS GRANULÓCITOS IMATUROS

O índice de granulócitos imaturos automatizado é um parâmetro que avalia, por meio da automação, as células precursoras da linhagem granulocítica vista com regularidade nas situações em que a medula está sendo ativamente solicitada, tornando com isso a sua detecção de suma importância nos casos suspeitos ou comprovados de sepse, doença considerada um grande desafio para a saúde pública. Essas células englobam os mielócitos, metamielócitos e promielócitos da linhagem neutofílica. Tal parâmetro é reportado em porcentagem e em números absolutos, como parte do resultado da contagem diferencial automática (OLIVEIRA, 2018; DA SILVA; PIMENTEL; NASCIMENTO, 2022; LIMA; et al., 2019)

Os sistemas automatizados são bastante sensíveis quando há o aparecimento dessas células da medula óssea nas amostras de sangue periférico. No entanto, em geral, os equipamentos não são capazes de diferenciar os três tipos celulares. Por isso, além da porcentagem de IG, eles emitem o flag que indicará a possível ocorrência. Como esses flags normalmente não variam entre os equipamentos, os alarmes emitidos usualmente para essas células imaturas são “presença IG” “granulócitos imaturos?” ou “neutrófilos bandas?”. (GROTTO, 2009; OLIVEIRA, 2018; DA SILVA; PIMENTEL; NASCIMENTO, 2022; FAILACE; FERNANDES, 2015).

1.5 AVALIAÇÃO DO HEMOGRAMA NA SEPSE

Segundo o ILAS (Instituto Latino-Americano de Sepse), a sepse é definida como “uma resposta sistêmica a uma doença infecciosa, seja ela causada por bactérias, vírus, fungos ou protozoários”. Apesar de a doença colocar em risco a vida do indivíduo e causar uma alta taxa de mortalidade, ainda não existe um teste diagnóstico padrão dessa condição. Na última década, inúmeros marcadores inflamatórios começaram a ser empregados nas rotinas hospitalares buscando a

detecção precoce da doença, o que pode ser determinante na evolução e prognóstico do paciente (PEREIRA, 2017; SILVA; CESAR, 2019, LIMA; et al., 2019).

Dentre os marcadores inflamatórios, existem a contagem global e a contagem diferencial de leucócitos. Esses parâmetros clínicos são comumente utilizados porque pacientes com sepse apresentam, na maior parte dos casos, leucocitose, com neutrofilia e aumento de formas imaturas (superiores a 10%). Apesar de este ser o quadro mais comum, pacientes sépticos também podem apresentar leucopenia (SILVA; CESAR, 2019).

Considerando a importância clínica de que o surgimento dos granulócitos imaturos no sangue periférico pode contribuir para o auxílio no diagnóstico de doenças como a sepse, foi realizada uma pesquisa utilizando hemogramas automatizado do dispositivo BC-6200 contendo o parâmetro de IG em diferentes faixas de valores relativos e com seu respectivo flag emitido. Também, foram usados os resultados obtidos na contagem diferencial de leucócitos pelo analisador digital automatizado de morfologia celular, MC-80. Além disso, foi feita uma análise microscópica manual da série leucocitária de todas as lâminas selecionadas a fim de avaliar se há concordância da contagem automatizada de IG com os achados de granulócitos imaturos na leitura microscópica manual e digital.

1.6 OBJETIVO GERAL

Realizar uma análise comparativa avaliando a correlação e a concordância da contagem entre o parâmetro IG% liberado pelo BC-6200 com os granulócitos imaturos encontrados na leitura de lâmina realizada através do scanner digital MC - 80 e da microscopia convencional.

1.7 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Correlacionar e verificar se há concordância da contagem entre os granulócitos imaturos encontrados na análise microscópica convencional e na digital realizada pelo Mc-80.

Avaliar a ocorrência de falsos positivos dos flags “granulócitos imaturos” liberados pelo BC-6200 em comparação com a presença de mielócitos,

metamielócitos ou promielócitos nas amostras de sangue periférico analisadas por microscopia convencional e pelo analisador de morfologia celular MC-80.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS LEUCÓCITOS POLIMORFONUCLEARES

Os três subtipos leucocitário que pertencem à categoria dos polimorfonucleares, incluem neutrófilos, eosinófilos e basófilos. Estes, caracterizam-se por seus núcleos lobulados, que variam em número e aspecto, e pela presença de grânulos citoplasmáticos onde o aspecto e as características tintoriais diferem de acordo com cada linhagem (LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024)

2. 1 .1. Neutrófilos

O neutrófilo segmentado é a forma mais madura do neutrófilo. Em condições normais, eles constituem a população mais abundante do sangue periférico, com valor relativo de 60 a 65% do total de leucócitos circulantes e representam a principal linha de defesa do corpo, sendo de suma importância no combate de infecção. No sangue, essas células têm uma sobrevivência de cerca de seis a dez horas antes de migrarem para os tecidos por diapedese, onde morrerão por apoptose, caso não sejam “utilizadas” (ZAGO, 2013; LORENZI, 2006; VERRASTRO; LORENZI,2005; HOFFBRAND; MOSS, 2018; MELO; RESENDE; GAIOLLA, 2013)

Morfologicamente, esse subtipo celular caracteriza-se por apresentar 12 a 15 µm de diâmetro, granulações citoplasmáticas numerosas e delicadas que ocupam todo o citoplasma dessas células e se coram de rosa pela afinidade tanto do corante básico quanto do ácido, além da presença de núcleos com dois a cinco lóbulos, com pelo menos um deles conectado ao próximo por um filamento de cromatina (BAIN, 2016; DA SILVA et al.,2015; LORENZI, 2006).

2. 1. 2 Bastonetes

Medindo em torno de 12 µm de diâmetro e também denominados bastões, são as formas de neutrófilos entre os metamielócitos e os neutrófilos maduros. Assim como os neutrófilos segmentados, estes apresentam no sangue periférico um tempo de meia-vida entre seis a dez horas (HOFFBRAND; MOSS, 2018).

No que se refere ao núcleo, não apresenta divisão lobular da forma como é vista nos neutrófilos segmentados e pode ter contornos em forma de “U”, “C” ou “S”. No citoplasma dessas células, as granulações primárias são pouco evidentes e há predominância da granulação secundária (HOFFBRAND; MOSS, 2018; CRISMA; NAKAJIMA; FOCK, 2017; LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024).

Em pessoas saudáveis, a quantidade de bastonetes no sangue periférico é reduzida, variando entre 0% a 5%. O aumento desse número quando comparado ao de neutrófilos segmentados indica desvio à esquerda, podendo ocorrer, concomitantemente, a liberação de células imaturas como metamielócitos, mielócitos, promielócitos, e até blastos (CALADO; FALCÃO, 2013; BAIN, 2016; VERRASTRO; LORENZI, 2005).

Dentre todas as células, o bastonete é a que pode gerar mais divergência de opiniões no momento da contagem diferencial de leucócitos. Isso porque sua identificação pode ser comprometida caso o núcleo esteja dobrado sobre si mesmo, já que a sobreposição de partes do núcleo pode esconder uma possível área filamentosa de constrição, o que leva à dificuldade de distinguir essas células dos neutrófilos segmentados. Outra dificuldade encontrada está na distinção entre o bastonete e os metamielócitos, pois estes são identificados somente quando mais da metade do diâmetro do núcleo já apresenta a indentação (DA SILVA et al., 2015; RAVEL, 2009)

2. 1. 3 Eosinófilos

São células sanguíneas que compõem cerca de 3 a 5% do total de leucócitos presentes no sangue periférico e exercem papel fundamental na regulação de processos inflamatórios, como alergia, além de atuarem na defesa contra parasitas metazoários helmínticos e em alguns distúrbios cutâneos alérgicos e neoplásicos (ZAGO, 2013; CALADO; FALCÃO, 2013)

Os eosinófilos sobrevivem na circulação por cerca de dezoito horas antes de migrarem para os tecidos, onde permanecem por um período adicional de até doze semanas (CRISMA; NAKAJIMA; FOCK, 2017).

No que se refere à morfologia, os eosinófilos têm tamanho ligeiramente maior do que os neutrófilos, variando entre 12 e 17 μm de diâmetro, e apresentam núcleo

segmentado e normalmente bilobulado. O citoplasma dessas células é repleto de grânulos esféricos, que são menos numerosos, mas significativamente maiores do que os encontrados nos neutrófilos. Esses grânulos não se sobrepõem ao núcleo e se destacam pela intensa coloração alaranjada quando submetidos a corantes ácidos, como a eosina, daí o nome que recebem estas células. As granulações coram-se muito bem por esses corantes ácidos devido ao alto teor de proteínas básicas presentes nelas. (BAIN, 2016; LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024; DA SILVA et al.,2015; LORENZI, 2006).

Na leitura de lâmina, sempre que a granulação eosinofílica for encontrada numa célula, seja nas suas formas imaturas ou como célula madura, esta deve ser classificada como eosinófilo (DA SILVA et al.,2015).

2. 1. 4 Basófilos

Os basófilos são as células mais escassas do sangue periférico, representando de 0 a 1% da população total de leucócitos. Esse subtipo celular é relativamente grande, apresentando um diâmetro que varia entre 10 e 14 μm , e possui núcleo normalmente segmentado, que, no entanto, é de difícil visualização devido a presença dos numerosos grânulos citoplasmáticos escuros que o recobrem (CRISMA; NAKAJIMA; FOCK, 2017; BAIN, 2016; LORENZI, 2006; HOFFBRAND; MOSS, 2018).

As granulações basofílicas são caracterizadas por serem grandes, planas, grosseiras e por terem afinidade por corantes básicos, como o azul de metileno, devido a presença dos mucopolissacarídeos ácidos no seu interior. Esses grânulos coram-se em preto (DA SILVA et al.,2015; LORENZI, 2006).

Da mesma forma que acontece na granulação eosinofílica, quando granulações basófilas são encontradas em uma célula na leitura microscópica, estas devem ser classificadas como basófilas (DA SILVA et al.,2015).

2.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS LEUCÓCITOS MONONUCLEARES

Os leucócitos mononucleares, que englobam os monócitos e linfócitos, são caracterizados por apresentarem seus núcleos esféricos, ovais ou endentados, sem segmentação. Embora também sejam classificados como agranulócitos, esses leucócitos podem conter grânulos. Nos monócitos, a granulação citoplasmática é na

maioria das vezes é discreta enquanto nos grandes linfócitos granulares((GLG), são evidentes (LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024).

2. 2.1 Monócitos

No sangue periférico, de modo geral, os monócitos são os leucócitos de maior tamanho, com um diâmetro variando entre 12 e 15 µm e representam de 3% a 8% da população leucocitária (HOFFBRAND; MOSS, 2018; MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2013).

Quanto a sua morfologia, os monócitos possuem um núcleo grande, localizado no centro da célula, que pode ser oval ou endentado, com cromatina fina e frouxa e sem a presença de nucléolos. O seu contorno celular é irregular, e o citoplasma é abundante, com coloração cinza ou azul claro acinzentado, por vezes contendo granulações finas róseas e frequentemente, vacúolos, uma característica bem encontrada nessas células (HOFFBRAND; MOSS, 2018; DA SILVA et al.,2015; BAIN, 2016; ZAGO, 2013; VERRASTRO; LORENZI,2005; LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024).

2.2.2 Linfócitos

Os linfócitos fazem parte do sistema imune, correspondendo em torno 30% do total de leucócitos circulantes no sangue periférico em pacientes adultos normais. Em crianças, este percentual varia de acordo com a faixa etária. Vale destacar que, apesar de os linfócitos terem como função a defesa do organismo contra infecções, estes, em determinados quadros patológicos podem agredir o próprio organismo, desencadeando doenças autoimunes (BAIN, 2016; FALCÃO; VOLTARELLI; MALMEGRIM,2013).

Essas células apresentam diferentes tamanhos e variações em sua morfologia provocadas pelos diversos estímulos existentes nas doenças inflamatórias, infecciosas e neoplasias (BAIN, 2016; LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024; PNCQ, 2021).

Os pequenos linfócitos possuem tamanho similar ao dos eritrócitos. Seu núcleo é regular e de formato esférico, ocupando quase toda a célula e resultando uma alta relação núcleo/citoplasma. A tonalidade do núcleo é azul-arroxeadada e a cromatina

nuclear se apresenta condensada. Além disso, eles também exibem citoplasma escasso e basofílico, que cora em azul pálido (ZAGO, 2013; LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024; BAIN, 2016).

Por outro lado, os linfócitos grandes, com 12 a 16 μm de diâmetro, apresentam núcleos menos densamente corados, cromatina nuclear menos condensada e citoplasma mais abundante. Em geral, essas células têm contorno irregular e são comumente encontradas no sangue periférico, sobretudo em crianças. Outros linfócitos semelhantes a estes podem também exibir grânulos de coloração vermelho-arroxeados, sendo classificados como grandes linfócitos granulares (BAIN, 2016; HENRY, 2008; PNCQ, 2021).

Na leitura microscópica convencional não é possível fazer a distinção entre os dois tipos de linfócitos, B e T. Para essa diferenciação é necessário realizar a imunofenotipagem. Além disso, em virtude das semelhanças existentes entre as características morfológicas dos linfócitos grandes e dos monócitos, pode ser difícil diferenciá-los (HENRY, 2008; VERRASTRO; LORENZI, 2005).

2.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DOS GRANULÓCITOS IMATUROS

2. 3.1 Promielócitos

Constituindo de 2 a 4% das células da medula óssea, são originados dos mieloblastos, apresentando a mesma característica morfológica, porém diferenciando-se destes em dois aspectos: em geral o promielócito é uma célula de maior tamanho que possui alta capacidade mitótica e nela há desenvolvimento de granulações primárias. Esses grânulos primários se desenvolvem no citoplasma a partir desse estágio. O número de granulações primárias encontradas pode sofrer variação, podendo ser em maior ou menor quantidade. Muitas vezes essas granulações estão sobre o núcleo (CALADO; FALCÃO, 2013; HOFFBRAND; MOSS, 2018; DA SILVA et al., 2015).

O núcleo do promielócito se caracteriza por ter o formato arredondado ou ovalado, com cromatina nuclear delicada ou menos condensada e pela presença de nucléolos. O citoplasma dessa célula é basofílico e, conforme mencionado anteriormente, também apresentam granulações. Estas, circundam o complexo de

golgi, que é representado por uma área perinuclear mais clara e estão espalhadas pelo restante do citoplasma (BAIN, 2016; PNCQ, 2021).

2. 3 .2 Mielócitos

Os mielócitos derivam-se do promielócito, o que acontece através de sua divisão e diferenciação. São células típicas da medula óssea, representando de 8 a 16% do total de sua população, e dão origem aos metamielócitos (CALADO; FALCÃO, 2013).

Possuem diâmetro inferior ao do promielócito, medindo cerca de 10 a 20 μm . Seu citoplasma é caracterizado pela presença sutil de granulações primárias e pela prevalência das granulações secundárias de peroxidase, denominadas específicas, que diferenciam os mielócitos das séries neutrifílica, eosinofílica e basofílica. Nos mielócitos neutrófilos, as granulações são róseas, finas e sutis; nos eosinófilos, têm cor laranja e são maiores; nos basófilos tem cor preta, são numerosas e grosseiras (BAIN, 2016; HOFFBRAND; MOSS, 2018; LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024; CRISMA; NAKAJIMA; FOCK, 2017).

O núcleo do mielócitos tem formato arredondado ou ovalado, em geral com ligeiro achatamento em um dos lados; a cromatina nuclear apresenta grau moderado de condensação e os nucléolos não são visíveis. (RAVEL,2009; HOFFBRAND; MOSS, 2018)

2. 3. 3 Metamielócitos

Compondo de 10 a 25% das células da medula e medindo de 10-12 μm de diâmetro, o metamielócito, já sem capacidade mitótica, apresenta núcleo excêntrico redondo ou ovalado, porém com uma chanfradura; apresenta cromatina nuclear condensada e ausência de nucléolo. No citoplasma dessas células há grânulos primários, porém em menor quantidade quando comparadas aos mielócitos e secundários, que são predominantes (CALADO; FALCÃO, 2013; DA SILVA et al.,2015; HENRY;2008; HOFFBRAND; MOSS, 2018; LEITE; SPEZIA; DIENSTMANN, 2024).

2. 4 ANALISADOR MORFOLÓGICO DIGITAL MC-80

O MC-80, desenvolvido pela Mindray (Shenzhen, China), é um analisador digital automatizado de morfologia celular que localiza, fotografa e pré-classifica automaticamente as células sanguíneas presentes nos esfregaços de sangue periférico (ZINI et al.,2023).

Segundo o manual do fabricante, este analisador foi projetado para operadores experientes que foram treinados no uso do equipamento e na identificação de células sanguíneas (MINDRAY, 2021).

O equipamento é composto por um microscópio automatizado, uma câmera alta definição e um sistema computacional com um software. Ele possui um sistema de gotejamento automático de óleo de imersão que é aplicado para umedecer a lente do microscópio e adquirir o melhor efeito óptico, assegurando a qualidade da imagem para as análises. Além disso, o analisador conta com acessórios como berço para lâminas, caixa de lâminas e cabo de alimentação (MINDRAY, 2021).

2. 4 .1 Microscópio

O microscópio automatizado percorre toda a lâmina em busca da melhor região para análise, chamada camada monolayer e amplia as imagens mostrando detalhes não perceptíveis ao olho humano (MINDRAY, 2021).

2. 4 .2 Câmera digital de alta qualidade

A câmera tem a função de localizar e capturar as imagens das células sanguíneas já analisadas pelo analisador hematológico. Primeiramente, examina, localiza e determina o campo ideal no esfregaço, utilizando, para isso, lentes objetivas de baixa ampliação. Depois, fotografa o campo sob esta para localizar e identificar as células-alvo. Então, usa a lente objetiva de ampliação elevada e fotografa as células-alvo a partir dos dados da área selecionada obtidas por meio da lente objetiva de ampliação baixa (MINDRAY, 2021).

2. 4 .3 Software especializado

Quando uma imagem de leucócitos é registrada, o software LabXpert (o sistema utilizado por ocasião da escrita deste trabalho) realiza uma busca interna para verificar se já existe uma imagem associada em um banco de dados para realizar a

pré-classificação, que se dá por meio de algoritmos que utilizam características morfológicas geométricas, além de cor e textura. As células pré-classificadas individualmente pelo software, são exibidas em uma tela de computador e organizadas conforme as respectivas populações celulares (KHONGJAROENSAKUN et al., 2023; ZINI et al., 2023).

Além das recomendações automáticas de pré-classificação dos leucócitos, o software também realiza a descrição morfológica dos eritrócitos. Nesse caso, o algoritmo se baseia nas características de cor e nos aspectos geométricos como tamanho e forma. O sistema também identifica e exibe a contagem e a estimativa de plaquetas (MINDRAY, 2021).

Embora o software faça uma pré-classificação das células, a validação dos resultados requer a intervenção humana, em que os profissionais especializados ficam responsáveis por revisar e validar os resultados. Eles irão reclassificar as células que porventura tenham sido identificadas incorretamente pelo sistema e classificar aquelas que o software não conseguiu classificar (MERINO et al., 2024; ZINI et al., 2023).

O software do MC-80 tem a produtividade de 60 slides/ hora e suporta o armazenamento de até 80.000 registros de amostras, abrangendo os resultados das análises e as imagens digitalizadas associadas. Quando o teto de armazenamento é alcançado, o próprio software se encarrega de substituir os registros mais antigos pelos mais recentes (KHONGJAROENSAKUN et al., 2023; MINDRAY, 2021).

2. 5 AS VANTAGENS DO MC-80 EM RELAÇÃO À CONTAGEM MANUAL DE CÉLULAS SANGUÍNEAS.

A contagem manual, embora seja considerada padrão ouro, apresenta algumas limitações como a grande variabilidade entre os observadores, a exigência de profissionais bem treinados e uma análise demorada. Em resposta as essas limitações, foram desenvolvidos novos sistemas automatizados de morfologia de células digitais, como o Mc-80, com a finalidade de atenuar essas desvantagens (MERINO et al., 2024).

O equipamento oferece diversas vantagens. Em primeiro lugar, garante a padronização na classificação celular, oferecendo maior consistência na identificação

e categorização das células, diminuindo, assim, a variabilidade associada à interpretação humana. Além disso, reduz a fadiga visual dos operadores, uma vez que a morfologia celular é exibida em uma tela grande, e reduz o tempo de análise, que pode ser de 10 a 25% mais rápido em comparação com a contagem diferencial de leucócitos (MERINO et al.,2024; ZINI et al.,2023; KHONGJAROENSAKUN et al., 2023).

Outro ponto é a possibilidade de os especialistas revisarem os resultados dos slides de forma remota (ZINI et al.,2023).

Também, apresenta eficiência no arquivamento das imagens, removendo a necessidade de armazenar um grande volume de lâminas de vidro convencionais, já que as imagens são digitalizadas e arquivadas eletronicamente (ZINI et al.,2023; MINDRAY, 2021).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em um hospital da rede pública localizado no estado do Rio de Janeiro, especificamente no laboratório de hematologia da instituição, entre janeiro e junho de 2024. O estudo contou com a seleção e a leitura microscópica da série leucocitária de 201 lâminas de hemogramas automatizados, com ênfase na identificação e avaliação dos granulócitos imaturos.

3.1 A COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE E A SELEÇÃO DAS LÂMINAS

Os hemogramas automatizados foram obtidos a partir de amostras de sangue periférico coletadas em tubos contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), com volumes que variam entre de 2 ml a 5 ml. As coletas foram por profissionais capacitados em diferentes pontos de coleta dentro da unidade hospitalar, conforme a rotina padrão do serviço, eliminando, assim, a necessidade de coletas adicionais para este estudo.

Para a seleção das lâminas, foram estabelecidos os seguintes critérios de inclusão: hemogramas automatizados com índice de IG variando de 2% a 20%, bem como aqueles com IG inferior a 2% que apresentaram o flag de “granulócitos imaturos?”. De acordo com o manual do equipamento, o índice de IG é calculado pela fórmula matemática apresentada a seguir, e o flag emitido indica a possível presença

de granulócitos imaturos, o que sinaliza ao analista a necessidade de avaliação microscópica. A inclusão das lâminas seguiu o critério de revisão estabelecido pelo laboratório de hematologia do hospital, que permite liberar amostras com IG inferior a 2% sem revisão microscópica.

$$\text{IMG\%} = \frac{\text{Partículas na região IMG no canal DIFF}}{\text{Soma de todas as partículas no canal DIFF, exceto aquelas na região fantasma}} \times 100\%$$

$$\text{IMG\#} = \text{WBC} \times \text{IMG\%}$$

Fonte: MINDRAY. **BC-6200 Analisador Automático de Hematologia**: Manual do operador, 2018.

Em contrapartida, os critérios de exclusão das lâminas incluíram a qualidade inadequada de confecção e coloração, bem como aquelas que apresentaram flags distintos de “granulócitos imaturos?”. Outros flags do equipamento, embora possam ser relevantes em diferentes contextos, não foram considerados neste estudo.

3.2 -ANÁLISE MICROSCÓPICA PARA A IDENTIFICAÇÃO DE GRANULÓCITOS IMATUROS.

As lâminas dos hemogramas automatizados confeccionadas e coradas no Sc-120, fabricado pela Mindray (Shenzhen, China), foram analisadas paralelamente em bancada com o auxílio microscópio Eclipse E200, cujo fabricante é a Nikon Corporation (Tóquio, Japão) para a contagem diferencial de leucócitos utilizando óleo de imersão e a objetiva de 100x e ocular 10x, resultando um aumento de 1000x.

Um único observador contou, através de um contador manual, 100 células em cada lâmina. Essa análise iniciou-se pela observação de uma lâmina com a lente objetiva de menor ampliação, 10x ou 40x. Essa primeira observação é essencial para avaliar a coloração e a disposição celular, contribuindo para a seleção da área mais adequada para a contagem, que deve ser aquela em que os eritrócitos estão próximos, porém não sobrepostos, e que as células não apresentem distorções morfológicas. Após a seleção da região ideal, a contagem foi feita por meio da objetiva de 100x, utilizando óleo de imersão e percorrendo a lâmina em movimentos de zigue-zague. Considerando que os diferentes tipos de leucócitos não se distribuem

uniformemente sobre a lâmina, a metade das células foi contada na borda e a outra metade foi contada no centro, uma vez que as células maiores, como eosinófilos, monócitos e basófilos, tendem a se concentrar nas periferias enquanto neutrófilos e linfócitos geralmente ficam no centro da lâmina. Quando há a presença de células imaturas, estas se acumulam mais nos bordos do que na parte central (BAIN, 2016; ANDRADE, 2020; CRISMA; NAKAJIMA; FOCK, 2017)

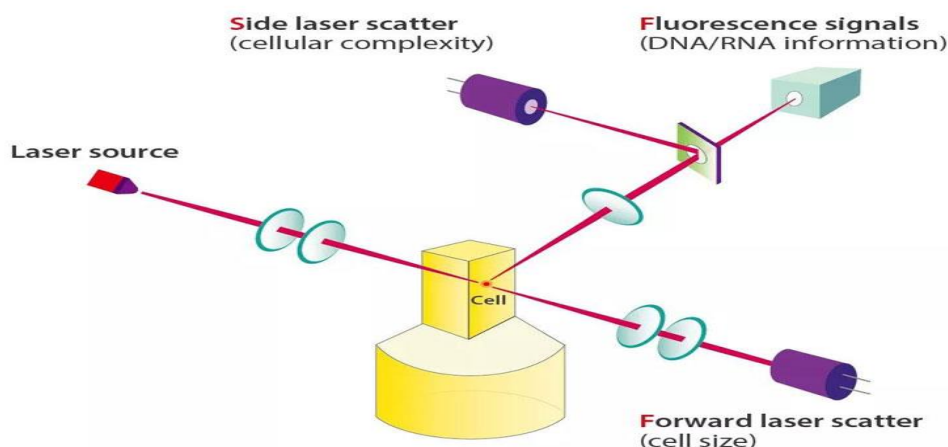
Para a identificação celular e posteriormente sua classificação em uma determinada categoria foi avaliado, em cada célula, o conjunto de todas as características estabelecidas como recomendação do ICSH (International Society for Laboratory Hematology), a saber: tamanho e forma do núcleo, padrão de cromatina e tamanho e aspecto do citoplasma.

Os resultados obtidos pela microscopia foram inseridos em uma planilha criada no Software Microsoft Excel 365 e serão apresentados mais adiante neste trabalho.

3.3 - CONTAGEM AUTOMATIZADA DE GRANULÓCITOS IMATUROS COM O ANALISADOR BC-6200

Todos os hemogramas selecionados foram realizados pelo analisador hematológico automatizado, comercializado pela Mindray, BC-6200 (Shenzhen, China). Este equipamento possui a tecnologia de análise celular SF Cube ou metodologia óptica fluorescente para realizar a diferenciação e a contagem dos leucócitos, além de identificar e indicar os granulócitos imaturos. Esta metodologia é baseada na interação do DNA/RNA presente nas células sanguíneas com um corante fluorescente, permitindo que através da dispersão de luz em diferentes ângulos haja a classificação celular. São elas: a luz de baixo ângulo corresponde o tamanho celular, a luz de alto ângulo indica o conteúdo de granulação da célula, e a intensidade do sinal fluorescente revela a quantidade de ácido nucleico presente na célula, ou seja, o grau em que a célula foi colorida. (MINDRAY, 2018; KULIK et al., 2020)

Figura 3 – Tecnologia de análise celular SF-Cube.

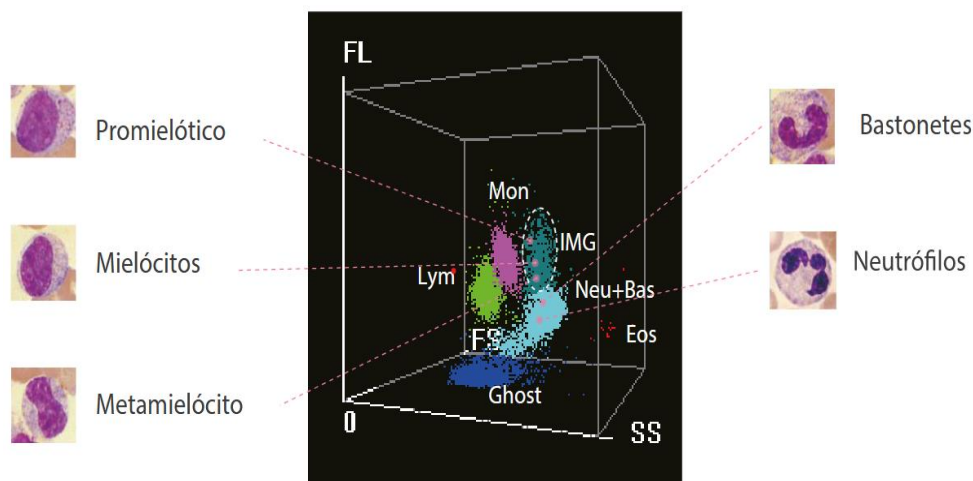


Fonte: site da Mindray (<https://www.mindray.com/en/media-center/blogs/small-cube-big-difference-mindray-new-sf-cube-technology-i>)

A diferença dos sinais de dispersão do laser com a combinação da fluorescência possibilita que o analisador hematológico forneça o gráfico de dispersão DIFF. Este é uma representação gráfica bidimensional que relaciona a complexidade celular, situada no eixo horizontal (X), com a intensidade de fluorescência, estabelecida no eixo vertical (Y). Ali, cada população celular ocupa uma área específica de plotagem, que é definida conforme as suas características morfológicas, e são representadas por uma cor distinta (MINDRAY, 2018).

No gráfico de dispersão DIFF, a nuvem dos granulócitos imaturos aparecem sobrepostas à nuvem dos neutrófilos segmentados. Eles se apresentam dispostos da seguinte maneira: localizados em uma posição mais alta no sentido da fluorescência, devido ao alto conteúdo de ácido nucleico, e mais à direita, graças à maior complexidade conferida ao citoplasma rico em grânulos. Nos hemogramas em que há um aumento na quantidade dessas células mais jovens da linhagem granulocítica é possível observar que a nuvem fica mais pontuda (MINDRAY, 2018).

Figura 4 – Gráfico de dispersão do DIFF do analisador hematológico BC-6200.



Fonte: site da Mindray (<https://www.promovendobrasil.com.br/wp-content/uploads/2023/08/bc-6200-traduzido-v1.pdf>)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

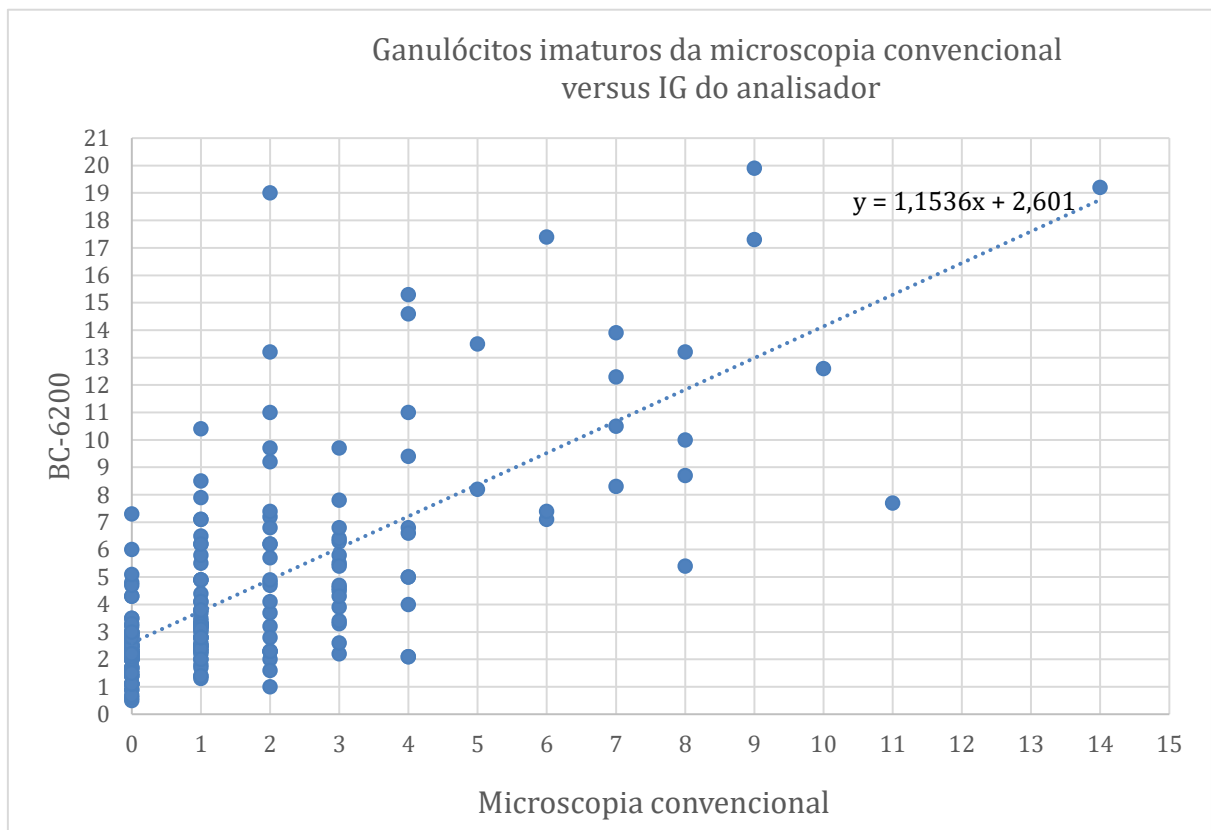
No presente estudo, os resultados dos 201 hemogramas selecionados foram analisados estatisticamente pelo teste de correlação de Pearson, através do software R (versão 4.40), em que cada unidade amostral foi avaliada por duas variáveis X e Y para verificar se havia relação entre elas.

As análises foram avaliadas de duas formas: por meio do p-valor, que revela se a correlação observada é estatisticamente significativa, e pelos gráficos de dispersão, conforme demonstrados abaixo nas figuras 4, 5 e 6, a fim de alcançar uma melhor visualização e compreensão dos dados obtidos na pesquisa. De acordo com o p-valor calculado, é possível ver que as correlações observadas não são estatisticamente significativas, visto que, p-valor foram $> 0,001$ para cada uma das análises.

A Figura 4 mostra a correlação da contagem entre o parâmetro de IG% liberado pelo equipamento BC-6200 e os granulócitos imaturos encontrados na análise microscópica convencional, e a figura 5, tem-se a análise da correlação entre a

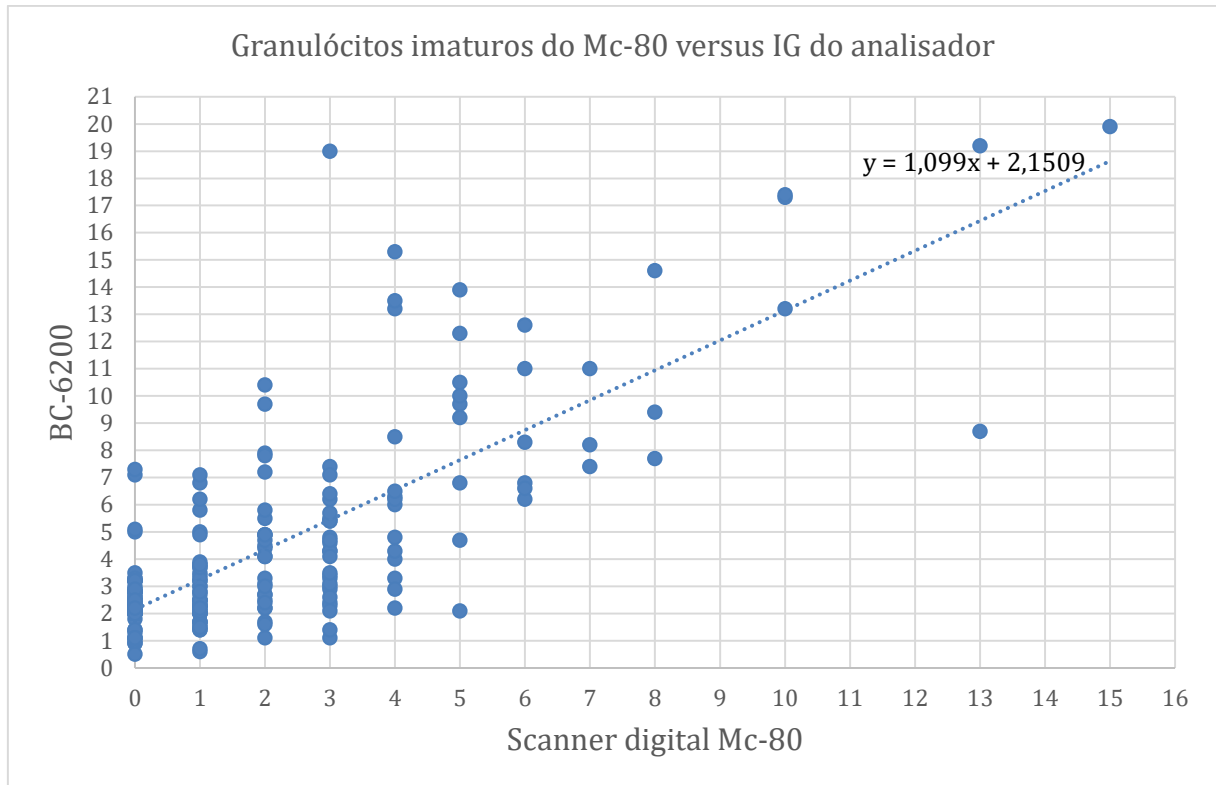
contagem do parâmetro de IG% desse mesmo analisador hematológico com a contagem de granulócitos imaturos fornecidas pelo analisador digital automatizado de morfologia celular, MC-80, após estas já terem sido revisadas e validadas por um profissional qualificado. Vale ressaltar que o observador que realizou a contagem diferencial dos leucócitos por leitura microscópica convencional foi diferente daquele que fez a análise pela leitura microscópica digital.

Figura 5 –Gráfico de dispersão da contagem entre o parâmetro IG% obtido através do analisador hematológico BC-6200 (Y) e os granulócitos imaturos contabilizados pela microscopia convencional (X). N= 201 amostras.



Fonte: Gráfico de dispersão obtido com o auxílio do software R, versão 4.40.

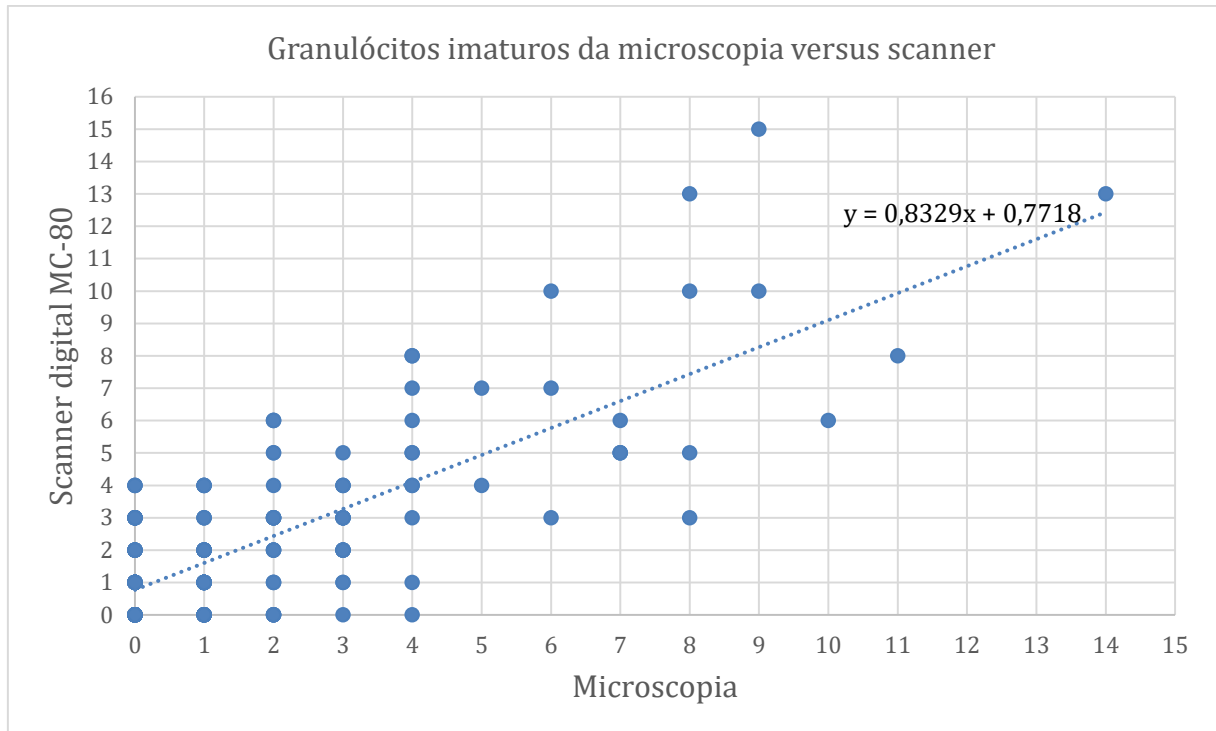
Figura 6 – Gráfico de dispersão da contagem entre o parâmetro IG% obtido através do analisador hematológico BC-6200(Y) e os granulócitos imaturos no MC-80 (X). N= 201 amostras



Fonte: Gráfico de dispersão obtido com o auxílio do software R, versão 4.40.

Em seguida, a figura 6, consistiu na mesma avaliação da correlação de Pearson, porém, desta vez, entre a contagem de granulócitos imaturos da microscopia convencional e os encontrados dessa mesma população celular no scanner digital MC-80. Este analisador automatizado é programado para fotografar e pré-classificar 100 células para a contagem da série leucocitária.

Figura 7 – Gráfico de dispersão entre a contagem de granulócitos imaturos obtidos através da microscopia convencional(Y) e pelo scanner digital MC-80 (X). N= 201 amostras.



Fonte: Gráfico de dispersão obtido com o auxílio do software R, versão 4.40.

Além disso, foi exemplificado na tabela 2, os resultados da análise do coeficiente de correlação intraclasse (ICC), que é uma das ferramentas estatísticas que têm como função avaliar a concordância entre examinadores ou métodos quando a variável investigada é quantitativa ou numérica, sendo os valores do teste de ICC e suas interpretações os seguintes: 0 (sem concordância); 0,10 a 0,40 (concordância fraca); 0,41 a 0,60 (concordância discreta); 0,61 a 0,80 (concordância moderada) e acima desse valor até 1,0 (concordância substancial).

Tabela 2- Resultados do teste de ICC (N=201 amostras).

Métodos comparados	ICC	Interpretação
Analizador versus microscopia	0,37	Concordância fraca
Analizador versus scanner digital MC-80	0,50	Concordância discreta
Scanner digital MC-80 versus microscopia	0,74	Concordância moderada

Legenda: ICC (Coeficiente de Correlação Interclasse).

Fonte: Valores obtidos com o auxílio do software R, versão 4.40.

Partindo deste princípio, foi possível perceber que na tabela 2 não houve concordância substancial em nenhuma das análises realizadas através do teste de ICC.

Ao analisarmos a correlação e a concordância do parâmetro de IG % automatizado com os granulócitos imaturos encontrados na leitura microscópica convencional e digital, estas não se apresentam significante. Ao se tratar de correlação, isso pode ser confirmado pelo p-valor, onde na contagem entre o parâmetro de IG % automatizado com os granulócitos imaturos encontrados na leitura microscópica convencional, o p-valor foi de 0,727, enquanto na análise da contagem entre o parâmetro de IG % automatizado com os granulócitos imaturos achados na leitura microscópica digital, o p-valor foi de 0,758.

Outro elemento estatístico que corrobora a ideia de que a correlação não se apresenta significante é vista através do gráfico de dispersão (figura 4 e 5), onde a reta está mais deslocada para cima, não passando no ponto de origem (0,0), o que indica que a automação conta muito mais esses percursos granulocíticos que a microscopia convencional e o scanner. Exemplificando, pode-se perceber que, quando se tem 5% de IG na automação, isso não significa que serão encontrados, na leitura microscópica manual ou digital, 5 granulócitos imaturos entre promielocitos, mielocitos e metamielocitos, pois o cálculo feito pelo equipamento deste índice não correspondente à soma de metamielócitos, mielócitos e promielócitos em relação ao total de granulócitos no sangue; ele é realizado por meio da fórmula matemática onde as partículas na região IMG no canal DIFF é dividida pela soma de todas as partículas no canal DIFF, exceto aquelas na região fantasma e , em seguida, o resultado é multiplicado por 100 para a obtenção do percentual , conforme citado no item 2.6.1.

Também foi verificada a correlação e a concordância da contagem dos granulócitos imaturos entre o scanner digital e a microscopia convencional, como ilustrado na figura 6 e tabela 2, respectivamente. No que diz a respeito à sua correlação, esta não se revelou estatisticamente significante, tanto que o p-valor foi 0,761. Quanto à concordância mostra-se moderada (ICC = 0,74) e não perfeita, pois não se encontra no scanner a mesma quantidade de granulócitos imaturos existentes na leitura por microscopia convencional. Essa concordância estatística não tão expressiva pode estar relacionada à subjetividade durante a avaliação morfológica das células sanguíneas, uma vez que a contagem diferencial de leucócitos foi feita por observadores diferentes, pois, embora o aparelho realize a pré-classificação para cada célula, uma por uma das 100 programadas, estas precisam ser revisadas, e, se

necessário, alteradas pelo analista clínico quando identificadas incorretamente pelo sistema.

Outro motivo que pode estar relacionado dessa concordância não ser perfeita é a escolha de uma área inapropriada da lâmina para a realização da contagem diferencial e avaliação morfológica. Esta área pode ser a cabeça ou a cauda do esfregaço, uma vez que na cabeça da lâmina as células normalmente encontram-se muito juntas e sobrepostas, o que dificulta a visualização, já na cauda as células estão muito escassas, e as hemácias e os leucócitos se apresentam deformados, o que também a torna inadequada. Logo, a zona ideal é onde as hemácias estão umas do lado das outras, sendo possível ver claramente o seu halo central, e onde a morfologia das células não estejam distorcidas.

Tabela 3: Confirmação dos flags emitidos pelo analisador hematológico BC-6200 comprovados pela microscopia e scanner digital MC-80.

Automação Presença do alarme eletrônico	Microscopia		
	Confirmada	Não confirmada	Total Geral
IG (≤ 2)	26	10	36
IG (> 2)	112	53	165
Total Geral	138	63	201

Automação Presença do alarme eletrônico	MC- 80		
	Confirmada	Não confirmada	Total Geral
IG (≤ 2)	17	19	36
IG (> 2)	123	42	165
Total Geral	140	61	201

Fonte: Valores obtidos com o auxílio do software R, versão 4.40.

A presente pesquisa também teve como objetivo verificar se há concordância entre a emissão do flag “granulócitos imaturos” gerados pelo equipamento com a presença de granulócitos imaturos na avaliação da lâmina pela microscopia convencional e pelo sistema automatizado de análise de célula.

Dos 201 hemogramas analisados cuja automação gerou flag de “granulócitos imaturos”, ou seja, alarmes indicando a possível presença de granulócitos imaturos na amostra (sem diferenciar em promielócitos, mielócitos e metamielócitos), 36 amostras continham IG% menor ou igual a 2%, das quais 26 apresentaram granulócitos imaturos confirmados pela microscopia e 10 não apresentaram nenhum dos três tipos celulares durante a contagem diferencial de leucócitos. Já nos 165 hemogramas restantes, com IG maior de 2%, 123 foram confirmadas devido ao aparecimento de qualquer uma delas (promielócitos, mielócitos e metamielócitos) e 53, não.

Desse modo, na tabela 3, foi possível observar que o analisador hematológico forneceu uma taxa de cerca 31,4% de alarmes falso-positivos para granulócitos imaturos, ou seja, o equipamento emitiu o flag, porém não houve achados correspondentes nas lâminas lidas manualmente. Essa mesma avaliação foi feita para o scanner digital, e, de acordo com os resultados obtidos no estudo, os valores para alarmes falso-positivos foram de 30,4%.

Apesar de as amostras terem sido divididas em dois grupos – amostras com parâmetro de $IG \leq 2\%$ e amostras com $IG > 2\%$ – para se calcular o falso positivo foi considerado o valor total de amostras cujo flag não foi confirmado. Com base nesses resultados, foi calculada a porcentagem desses casos em relação ao número total de amostras que emitiram flag, que corresponde às 201.

Arruda et al.; publicaram, em 2019, um artigo que mostrou a relação entre o flag IG, dos leucogramas analisados pelo Celly-Dyn Ruby e a leitura manual. Ao compará-los, obteve-se um falso positivo de cerca 42%. Tais valores são tão expressivos quanto os encontrados neste trabalho. Os autores argumentam que, apesar de o analisador ser mais preciso, pois avalia um maior número de células, pode apresentar um elevado número de falso-positivos, e que nem sempre os alarmes emitidos pelo equipamento são honestos, motivo pelo qual a conferência da lâmina através do método manual deve ser respeitada, com o objetivo de garantir um resultado de qualidade.

5 CONCLUSÃO

Considerando que não existe correlação estatisticamente significativa nem concordância entre o parâmetro de IG% automatizado e os achados de granulócitos imaturos na leitura microscópica manual e digital, a sua substituição completa do elemento humano por automação não é recomendável. Ou seja, as lâminas não dispensam a visualização do esfregaço sanguíneo por profissionais experientes e capacitados para a liberação de um hemograma de qualidade. Assim, espera-se que esse trabalho possa servir de subsídio para estudos posteriores que visem o fim da leitura microscópica em amostras com a presença de granulócitos imaturos.

Apesar das contribuições, este trabalho apresenta como limitação a impossibilidade de avaliar, através desse rol amostral, o número de falsos negativos gerados pelo equipamento, tendo em vista que, para essa avaliação, seria necessário que o analisador hematológico não tivesse emitido o flag e a microscopia ou o scanner digital tivessem identificado granulócitos imaturos durante a leitura da lâmina, o que não foi o caso, pois todos os hemogramas automatizados selecionados apresentavam o flag “granulócitos imaturos”. Apesar de não ter sido feita essa avaliação, de acordo Escouto (2020), a taxa aceitável de resultados falsos negativos deve ser menor que 5%. Quando os valores são superiores a este recomendado, deve-se propor um ajuste no critério de liberação automática estabelecido pelo laboratório para o determinado parâmetro.

Por fim, também é possível concluir que o scanner digital MC-80, apesar de apresentar algumas vantagens em relação à leitura por microscopia convencional, não deve substituí-la na contagem diferencial de leucócitos, podendo, porém, ser utilizado de forma complementar.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, J.F.J. **Metabolismo fosfocálcico e as suas implicações**. 2020.265f. Relatório de estágio (Mestrado em Análises Clínicas), Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Lisboa, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ulisboa.pt/bitstream/10451/54074/1/TM_Joana_Andrade.pdf> Acesso em: 15 out. 2024.
- ARRUDA, A. B. L. et al. Comparação entre dois métodos na contagem diferencial de leucócitos. **Braz. J. Hea. Rev**, Curitiba, v. 2, n. 5, p. 4757- 4758, set./out. 2019.
- BAIN; B.J. **Células sanguíneas: um guia prático**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2016.
- BRITO JUNIOR, L. Validação do analisador hematológico Mindray BC 6000 para a contagem de eritroblastos em sangue periférico. **J Bras Patol Med Lab**, Belém v.58 p.1-6. 2022. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/jbpm/a/JdTxl67L4P7N8mQhMP7PghK/?format=pdf&lang=pt#:~:text=Conclus%C3%A3o%3A%20A%20valida%C3%A7%C3%A3o%20proposta%20mostrou,os%20gr%C3%A1ficos%20gerados%20pelo%20equipamento.>>>
- CALADO, R.T.; FALÇÃO, R.P. Heterogeneidade das Células do Sangue. Órgãos Hematopoéticos e Linfopoéticos. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. Capítulo 1, p. 3-10.
- COMAR, S.R.; PASQUINI, R. Bases Técnicas do Hemograma e suas Aplicações. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. Capítulo 83, p. 817-831.
- CRISMA, A.R.; NAKAJIMA, K.; FOCK, R.A. Leucócitos. In: SILVA, A.M.; NETO, L.M.R.; SANTOS, P.C.J. L. **Hematologia: Métodos e interpretação**. São Paulo: Editora Roca, 2017. Capítulo 11, p. 287-322.
- DA SILVA, A. F. S.; PIMENTEL, R.F.; NASCIMENTO, F. R. B. D. Estudos da correlação de parâmetros clínicos avançados e achados na hematoscopia: granulócitos imaturos (IG%). **RBAC**, Recife v. 54, n. 3, p. 282-286. 2022. Disponível em: <https://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2023/01/RBAC-v54-3-2022_art11.pdf> Acesso 22 nov. 2024.
- DA SILVA, P.H. *et al.* **Hematologia laboratorial: teoria e procedimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2015.
- ESCOUTO, M. F. **Avaliação do parâmetro Índice de Granulócitos Imaturos como critério de revisão microscópica na rotina laboratorial**. 2020. 42 f. Trabalho de conclusão de curso - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2020. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/253606/001126045.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em 14 nov. 2024.
- FAILACE; R.; FERNANDES; F. **Hemograma: manual de interpretação**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

FAILACE; R.; PRANKE; P. Avaliação dos critérios de liberação direta dos resultados de hemogramas através de contadores eletrônicos. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** [S.l.], v. 26, n.3, p.159-166, 2004. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/S1516-84842004000300004>> Acesso em: 5 nov. 2024.

FALCÃO, R.P.; VOLTARELLI, J.C.; MALMEGRIM, K.C.R. Ontogênese e Diferenciação do Sistema Linfoide. Dinâmica dos Linfócitos. Imunidade Humoral e Celular. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. Capítulo 6, p. 37- 52.

GONÇALVES, T. C. **Análise comparativa das metodologias de contagem manual e automatizada de plaquetas em plaquetopenias**. 2019. 71 f. Dissertação. (Mestrado em Mestrado Profissional em Hemoterapia e Biotecnologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão preto, São Paulo, 2019. Disponível em: < <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17155/tde-11022020-170730/pt-br.php>>. Acesso em: 20 nov.2024.

GROTTO, H. Z. W. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** [S.l.], v. 31, n. 3, p. 178-182, jan. 2009. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/S1516-84842009005000045>> Acesso em: 25 out. 2024.

HENRY; J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 20ª ed. São Paulo: Manole; 2008.

HOFFBRAND, A. V.; MOSS, P. A. H. **Fundamentos em hematologia**. 7ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2018.

ILAS. **Sepse: um problema de saúde pública**. Brasília: CFM, 2015.

KHONGJAROENSAKUN, N. et al. White blood cell differentials performance of a new automated digital cell morphology analyzer: Mindray MC-80. **International journal of laboratory hematology**, Bangkok, v. 45, n. 2, p. 1-9, out .2023. Disponível em : < <https://doi.org/10.1111/ijlh.14119>> Acesso em: 22 nov.2024.

KULIK, K. et al. Evaluation and comparison of the new Mindray BC-6200 hematology analyzer with ADVIA 2120i. **Int J Lab Hematol**. Varsóvia, v.00, p.1-8, 2020. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/ijlh.13418>> Acesso em: 02 out. 2024.

LEITE; L.A.C.; SPEZIA; J.; DIENSTMANN; G. **Atlas de hematologia laboratorial: uma imersão na citomorfologia hematológica guia prático**. 1ª ed. São Paulo: Red Publicações, 2024.

LIMA, L. R.; et al. Contagem automatizada de granulócitos imaturos em pacientes de uma unidade de terapia intensiva com suspeita de infecção. **J Bras Patol Med Lab**, Curitiba, v.55, n.3, p.274-280, 2019. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/jbpml/a/VjTM7hVKQKqWBSnYHvVXfJP/?format=pdf&lang=p>> Acesso em: 20 nov. 2024.

LORENZI; T. F. **Atlas de hematologia: clínica hematológica ilustrada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

MELO, L.N.; RESENDE, L.S.R.; GAIOLLA, R.D. Leucocitoses e Leucopenias. Alterações Sanguíneas em Doenças não Hematológicas. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. Capítulo 85, p. 841-848.

MERINO, A. et al. Performance of the new MC-80 automated digital cell morphology analyser in detection of normal and abnormal blood cells: Comparison with the CellaVision DM9600. **Int J Lab Hematol**. Barcelona, v. 46, n. 1, p. 72-82, 2024. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/ijlh.14178> > Acesso em: 10 out. 2024.

MINDRAY. **BC-6200 Analisador Automático de Hematologia**: Manual do operador, 2018.

MINDRAY. **MC-80 Analisador Automatizado de Morfologia Celular Digital**: Manual do operador, 2021.

MOLINARO, E.M; CAPUTO, L.F.G.; AMENDOEIRA, M.R.R. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 3**. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2013.

MUNHOZ, M.A.G. et al. Controle de Qualidade, Instrumentação e Amostragem do Material Biológico em Hematologia. In: SILVA, A.M.; NETO, L.M.R.; SANTOS, P.C.J. L. **Hematologia: Métodos e interpretação**. São Paulo: Editora Roca, 2017. Capítulo1, p. 1-59.

OLIVEIRA, A. B. de. **Novos parâmetros do hemograma automatizado**. 2018. 26 f. Trabalho de conclusão de curso - Academia de Ciência e Tecnologia, Catanduva, SP, 2018. Disponível em: <https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/padronizacoes_hemato/10.pdf> Acesso em: 10 set. 2024.

PAIVA, H. H.; REGO, E. M. Hematopoiese: Regulação e Microambiente. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2013. Capítulo 2, p. 11-14.

PEREIRA, V.S.C. Utilização da contagem automatizada de granulócitos imaturos para diagnóstico da sepse. **RBAC**. Salvador, v. 49, n. 4, p. 328-332, 2017. Disponível em: < <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/08/1007966/rbac-vol-49-4-2017-ref-457.pdf> > Acesso em: 19 out. 2024.

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE (PNCQ). **Recomendações do ICSH para padronização da nomenclatura e da graduação das alterações morfológicas do sangue periférico**. Rio de Janeiro: PNCQ, 2021. Disponível em: < <https://pncq.org.br/wp-content/uploads/2021/01/Marcos-Fleury-1.pdf> > Acesso em: 15 dez. 2024.

RAO, L.V.; MICHAEL SNYDER, L. **Wallach: interpretação de exames laboratoriais**. Tradução Felipe Piedade Gonçalves Neves. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2022.

Ravel; R. **Laboratório clínico: aplicações clínicas dos dados laboratoriais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

RIBEIRO; M. B.; DOS SANTOS BRITO, C.; DE BRITO JUNIOR, L. C. Avaliação comparativa entre analisadores hematológicos Mindray BC-6800 e URIT 5500, com ênfase na capacidade de detecção de blastos em pacientes portadores de leucemia aguda. **Rev Med.** São Paulo, v. 101, n. 2, mar- abr 2022. Disponível em :< <https://www.revistas.usp.br/revistadc/article/view/172549/180717> > Acesso em: 25 nov. 2024.

SILVA, E.N. da; CESAR, J.J. Alterações hematológicas relacionadas à sepse em pacientes internados em unidade de tratamento intensivo. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research.** Belo Horizonte, v. 26, n.1, p.59-67. Mar- Mai 2019. Disponível em: < https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190306_114904.pdf> Acesso em :10 nov. 2024.

VERRASTRO, T.; LORENZI, T.F. Eritrócitos e leucócitos In: VERRASTRO, T.; LORENZI, T.F.; NETO, S. W. **Hematologia e hemoterapia** fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. Capítulo 2, p. 9-17.

ZAGO, M. A. Granulócitos. Produção, Dinâmica e Função. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia.** São Paulo: Editora Atheneu, 2013. Capítulo 4, p. 23-32.

ZINI, G. et al. Artificial intelligence and the blood film: performance of the MC-80 digital morphology analyzer in samples with neoplastic and reactive cell types. **Int J Lab Hematol.** Roma, v. 45, n. 6, p. 881-889, 2023. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/ijlh.14160>> Acesso em: 22 out. 2024.