

# Leucocitose? Valores de Referência para os Leucócitos na Primeira Infância

DANIEL VIRELLA <sup>1</sup>, VALDEMAR TEIXEIRA <sup>2</sup>, M.<sup>a</sup> JULIETA ESPERANÇA PINA <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Serviço de Pediatria do Hospital Condes de Castro Guimarães, Cascais

<sup>2</sup> Serviço de Patologia Clínica do Hospital de São Francisco Xavier

## Resumo

**Contexto:** Os valores do leucograma são frequentemente tidos em conta na decisão diagnóstica e terapêutica da infecção na primeira infância mas, estamos a identificar correctamente os casos de leucocitose? **Objectivo:** Determinar os valores de referência, obtidos num contador automatizado, do leucograma na primeira infância. **Metodologia:** Amostragem oportunista das crianças entre os 6 e 24 meses, utentes dos cuidados de Saúde Infantil dos Centros de Saúde do Concelho de Cascais. Foram excluídas as crianças com história de infecção nas 4 semanas prévias. Após consentimento paternal, foi realizado hemograma completo automatizado num contador Coulter e doseamento da proteína C reactiva (PCR) por método imunoturbidimétrico. Excluídas as crianças com PCR positiva, analisou-se a distribuição dos valores do leucograma. **Resultados:** Foram inquiridas 183 crianças, tendo sido colhido sangue a 125, das quais 120 apresentaram PCR negativa. Valores obtidos na contagem de leucócitos (10<sup>9</sup> por litro): distribuição Normal, não havendo diferenças nos três semestres abrangidos; valor mínimo 6,2; máximo 23,4; média 12,323; desvio padrão 3,399; percentil 2,5%: 6,738; percentil 97,5%: 19,5; neutrófilos: 11,7 - 53,1% (p2,5-p97,5). **Discussão:** Estes valores, obtidos numa amostra saudável da comunidade, são ligeiramente superiores aos esperados pela Literatura. Encontraram-se poucas variações ao longo dos três semestres analisados. O predomínio de células mononucleares é característica deste grupo etário, devendo uma clara inversão desta fórmula leucocitária ser considerada anormal. **Conclusão:** Torna-se necessário relembrar aos clínicos a definição de leucocitose para esta idade.

**Palavras-chave:** Leucograma, valores normais, primeira infância, contadores automatizados.

## Summary

The cell blood count is often used as a decision tool in the evaluation of febrile infants and toddlers. Are we really using the correct reference values for the leukocyte count? **Objective:** Evaluate the normal values of the automatized leukocyte count in infants and toddlers. **Methods:** Opportunity sampling of the 6 to 24 months-old children who use the Healthy Child Care Services of the public Health Centers in Cascais county. All children with any suspected infection in the previous four weeks were excluded. Parental consent for blood sampling was required. Automatized cell blood count was performed using a Coulter counter; an immuno-enzymatic assay was used for C reactive protein (CPR). The leukocyte count was analysed after exclusion of CPR positive children. **Results:** The parents of 183 children were interviewed, blood was drawn from 125 of them; 120 of the children were CRP negative. Leukocyte counts (billions per liter): Normal distribution, presenting no differences between semesters of life; minimum 6,2; maximum 23,4; mean 12,323; standard deviation 3,399; P<sub>2,5</sub> 6,738; P<sub>97,5</sub> 19,5; neutrophils; 11,7-53,1%. **Discussion:** These limits, slightly higher than the usually seen on textbooks, are taken from healthy children sampled from the community. They seem to be applicable to the entire age range. The predominance of mononucleated cells is a characteristic feature of this age group; any clear inversion of this differential count should be taken as abnormal. **Conclusion:** It is very important that the clinicians have in mind the age related differences on normal values of the leukocyte count and differential count.

**Key-Words:** Normal leukocyte counts, infants and toddlers, automatic counters.

## Introdução

Na avaliação do lactente ou criança pequena com febre, os valores do leucograma são frequentemente tidos em conta na decisão diagnóstica e terapêutica. Esta informação, potencialmente valiosa, pode ser difícil de interpretar. Estaremos a identificar correctamente os casos de leucocitose? Os tratados trazem tabelas de valores normais ajustadas às idades <sup>(1, 2, 3)</sup>, mas uma análise cuidadosa das suas referências bibliográficas revela a fragilidade das amostragens nas quais se baseiam. Por outro lado, a maior parte das determinações foram feitas há décadas <sup>(1, 2)</sup>, quando as técnicas laboratoriais eram manuais e as regras epidemiológicas e éticas mais tolerantes. Hoje, a contagem diferencial automatizada de células e parâmetros corpusculares é a regra, embora não pretenda nem deva substituir completamente a contagem manual nem a revisão do esfregaço pelo patologista <sup>(4)</sup>. Esta evolução tecnológica não se acompanhou da verificação dos valores de referência sobre as novas condições, deixando espaço para dúvidas que devem ser resolvidas. Particularmente, não se conhecem resultados de estudos realizados com este fim na população portuguesa.

A determinação de valores laboratoriais normais nas idades pediátricas enfrenta importantes dificuldades metodológicas. Existe um obstáculo à utilização de técnicas cruentas no estudo de indivíduos normais que não podem dar uma autorização esclarecida, como as crianças mais jovens, o que obriga à utilização de abordagens epidemiológicas elaboradas que não firam as regras éticas. O uso de amostras de líquidos orgânicos para determinações diferentes de aquelas para as quais foi dada a autorização para a colheita, embora possa não ter consequências graves para o indivíduo, tem o risco potencial de violação da privacidade ou de uso indevido de informação, pelo que deve ser devidamente avaliada. Esta questão não se coloca quando se aproveitam os próprios resultados obtidos em colheitas autorizadas para realizar estudos paralelos.

Aproveitando dados de um estudo visando a determinação da ferropénia na primeira infância no Concelho de Cascais, trabalharam-se os valores do hemograma completo automatizado para determinar os valores normais do leucograma em crianças entre os 6 e os 24 meses de idade.

## Objectivo

Determinar os valores de referência na primeira infância (6 a 24 meses) do leucograma obtido num contador automatizado (contagem de leucócitos e de neutrófilos).

## Metodologia

Aproveitando um programa de detecção oportunista de ferropénia no Concelho de Cascais, foi obtida uma amostra das crianças entre os 6 e 24 meses, utentes dos cuidados de Saúde Infantil dos Centros de Saúde do Concelho de Cascais <sup>(5, 6)</sup>.

Através de um inquérito anamnésico <sup>(5)</sup>, foram excluídas as crianças com história de possível infecção nas quatro semanas prévias. Pediu-se consentimento paternal escrito para a colheita de sangue e realização das determinações analíticas necessárias ao estudo das reservas de ferro. As colheitas foram preferencialmente venosas, sendo feita colheita capilar quando a venoclise se previa difícil ou houvesse uma preferência clara dos pais. Todas as colheitas foram realizadas de manhã, sendo os produtos guardados em recipiente refrigerado, a cerca de 4°C. Além de determinações bioquímicas específicas, efectuaram-se em cada amostra o hemograma automatizado completo nos contadores Coulter MAX-M ou Coulter JT3 e a quantificação da proteína C reactiva (PCR) por método imunoturbidimétrico. Todas as determinações foram efectuadas de acordo com as instruções dos fabricantes, inserindo-se na rotina do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de São Francisco Xavier. As determinações realizaram-se à tarde (3 a 7 horas após as colheitas). Excluíram-se as crianças com PCR positiva (>1 mg/dL), de modo a eliminar virtuais processos inflamatórios não identificados pela anamnese.

Analisou-se a distribuição dos valores das contagens de leucócitos e de neutrófilos das amostras consideradas como válidas. Utilizaram-se estatísticas descritivas e analíticas, com o apoio do programa informático SPSS, num Toshiba T2105.

## Resultados

Foram inquiridas 183 crianças entre os 6 e os 24 meses de idade, distribuídas homogeneamente pelos três semestres abrangidos (a descrição pormenorizada da amostra foi previamente publicada <sup>(5, 6)</sup>). Foi colhido sangue a 125 das 141 crianças elegíveis (91,3%), tendo 120 apresentando valores de PCR < 1,0 mg/dL, constituindo a amostra laboratorial. Foi efectuada colheita venosa em 92 crianças (76,7%) e capilar em 28 (23,3%). Não se encontraram diferenças nas distribuições dos valores do leucograma consoante o método de colheita (ANOVA: F=0,5355; p=0,4658) (dados não apresentados), nem quanto ao contador utilizado (Test t de Student e Teste de Levine; p<0,05).

Os valores obtidos na contagem automática de leucócitos apresentaram uma distribuição Normal, com uma

amplitude entre  $6,2 \times 10^9/L$  e  $23,4 \times 10^9/L$  (Figura 1). Não encontramos diferenças na estratificação dos valores por semestres de vida (Figura 2). A análise da distribuição linear do total da amostra revela que o 95% central dos valores se encontra entre  $6,7 \times 10^9/L$  (percentil 2,5) e  $19,4 \times 10^9/L$  (percentil 97,5) (Tabela I).

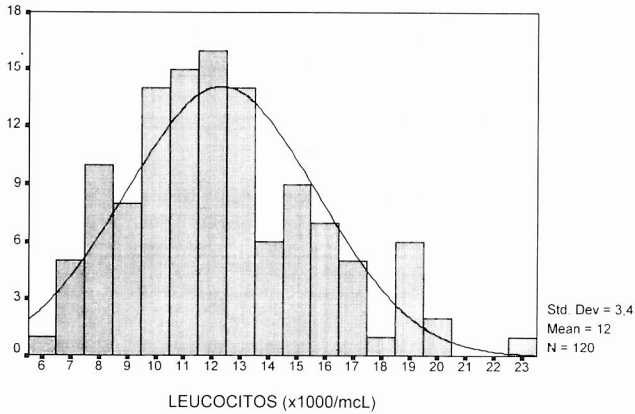


FIG. 1 – Distribuição do número total de leucócitos no total da amostra (histograma e parâmetros de distribuição). Os valores da contagem total de leucócitos têm uma distribuição gaussiana Normal (Kolmogorov-Smirnoff  $Z = 0,852$ ;  $p=0,463$ ).

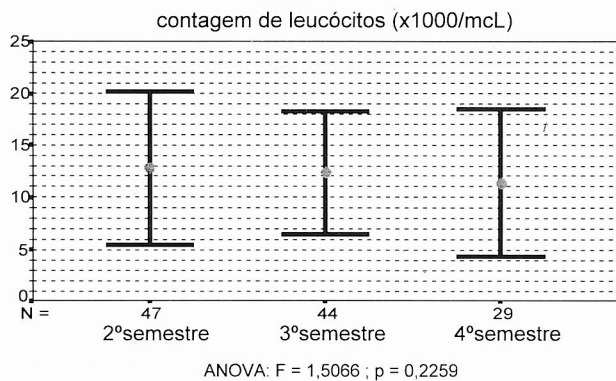


FIG. 2 – Contagem do número total de leucócitos no 2.º, 3.º e 4.º semestre de vida (média + 2 desvios padrão). Não encontramos diferenças na distribuição dos valores da contagem total de leucócitos nos três semestres de vida abrangidos (6 a 12 meses, 13 a 18 meses e 19 a 24 meses de idade), o que permite utilizar os mesmos valores de referência para toda a amplitude etária.

TABELA I

Valores da referência para a contagem automatizada de leucócitos e neutrófilos, em crianças entre os 6 e os 24 meses de idade. Os valores são apresentados como mediana (p50) e limites dos 95% de valores centrais, da contagem total de leucócitos e neutrófilos e percentagem de neutrófilos no total de leucócitos. (Dimensão da amostra: 120 crianças)

	percentil 2,5	percentil 50	percentil 97,5
Leucócitos (x $10^9/L$ )	6,7	11,8	19,4
Neutrófilos (x $10^9/L$ )	1,2	3,5	8,7
Percentagem de Neutrófilos	11,7%	29,6%	53,1%

A análise dos valores absolutos obtidos na contagem automática de neutrófilos apresenta também uma distribuição Normal ( $Z=0,9565$ ;  $p=0,3196$ ), com uma amplitude entre  $0,7 \times 10^9/L$  e  $9,8 \times 10^9/L$ ; 95% dos valores encontram-se entre  $1,2 \times 10^9/L$  (percentil 2,5) e  $8,7 \times 10^9/L$  (percentil 97,5) (Tabela 1). Não encontramos diferenças na estratificação por semestres de vida.

Também a análise da percentagem de neutrófilos no total de leucócitos revelou uma distribuição Normal ( $Z=0,7662$ ;  $p=0,5999$ ), estendendo-se entre 6,2% e 56,3%. Os 95% centrais encontram-se entre 11,7% (percentil 2,5) e 53,1% (percentil 97,5). A percentagem de neutrófilos aumenta ao longo dos três semestres de vida analisados, sendo este aumento estatisticamente significativo (Figura 3). Não encontramos qualquer associação entre o valor total de leucócitos e a percentagem de neutrófilos (Figura 4).

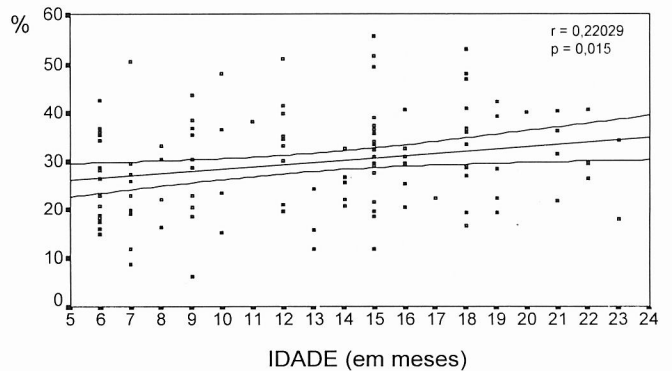


FIG. 3 – Regressão linear entre a percentagem de neutrófilos na contagem total de leucócitos e a idade. A proporção de neutrófilos no total de leucócitos aumenta com a idade, existindo uma correlação positiva entre as duas variáveis. No entanto, o incremento da proporção de neutrófilos é de cerca de 10% (de 25% para 35%), o que não é significativo clinicamente.

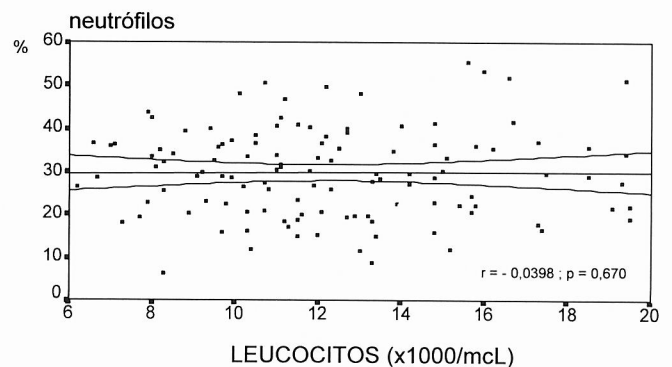


FIG. 4 – Regressão linear entre a contagem do total de leucócitos e a percentagem de neutrófilos. A proporção de neutrófilos não varia com o aumento da contagem total de leucócitos, não existindo uma correlação positiva entre as duas variáveis. Se as contagens superiores a  $18 \times 10^9/L$  fossem devidas a desmarginalização de neutrófilos não circulantes, provocada pelo stress, deveríamos encontrar uma correlação positiva entre a proporção de neutrófilos e a contagem total de leucócitos.

Os valores de referência (valores limite dos 95% centrais) sugeridos neste estudo para a contagem automatizada de leucócitos e neutrófilos, estão sumarizados na Tabela I.

### Discussão

A nossa principal preocupação metodológica foi garantir a validade dos dados obtidos e verificar a idoneidade da sua aplicação ao grupo etário estudado. A utilização de crianças utentes dos serviços de Saúde Infantil dos Centros de Saúde do Concelho como amostra base evita, logo à partida, a distorção própria dos estudos baseados em populações hospitalares.

O inquérito anamnésico mostrou-se eficaz na exclusão das crianças com história de doença infecciosa ou inflamatória recente, sendo o crivo posteriormente apertado com o doseamento em todas as amostras da PCR. Cremos que a nossa amostra laboratorial não inclui, de facto, qualquer criança com processos inflamatórios activos, i.e., reacções inflamatórias que levem ao aumento dos leucócitos circulantes.

O método de colheita, venoso ou capilar, não influenciou os resultados, pois não verificámos qualquer diferença na análise estatística da sua distribuição. Também o momento da colheita, sempre após as consultas de revisão de saúde ou os momentos vacinais, não é responsável por qualquer aumento significativo do número de leucócitos circulantes. O stress, provocado pelas intervenções médicas prévias poderia, pelo menos teoricamente, levar a um aumento dos leucócitos à custa da desmarginalização de neutrófilos. Se tal acontecesse em quantidade significativa, seria de esperar encontrar neutrofilia relativa nos casos de contagem total de neutrófilos mais elevada. Tal não se verificou.

A utilização de dois contadores automatizados do mesmo fabricante (MaxM e Coulter JT3) não interfere nas contagens totais de leucócitos, pois ambos aparelhos utilizam o mesmo método de contagem, sendo, no entanto, a contagem diferencial mais discriminativa com o MaxM (maior diferenciação dos diferentes tipos de leucócitos).

Os valores obtidos parecem poder aplicar-se com segurança a toda a amplitude etária estudada, pois não encontramos diferenças significativas na análise por semestres da contagem do total de leucócitos. O incremento da proporção de neutrófilos com a idade, embora real e estatisticamente significativo, não tem importância clínica para a fixação de limites de referência, pois corresponde apenas a uma variação absoluta de cerca de 10% (25% aos 6 meses para 35% aos 23 meses).

Tendo todas as variáveis analisadas uma distribuição Normal ou Gaussiana, a utilização dos percentis 2,5 e 97,5 como limites propostos para os valores de referência, corresponde sensivelmente aos obtidos usando a

adição e subtração de dois desvios padrão à média, podendo ser encarados como indicadores fiáveis.

Os valores obtidos são ligeiramente superiores aos encontrados na Literatura <sup>(1, 2, 3, 8)</sup> e, principalmente, aos que vemos ser utilizados na prática clínica. A contagem do total de leucócitos, no entanto, pode ser francamente alta neste grupo etário, ultrapassando os  $20 \times 10^9/L$  sem existir doença. O predomínio de células mononucleadas é característica deste grupo etário, devendo uma percentagem de neutrófilos superior a 55% suscitar a suspeita de presença de patologia a ser valorizada de acordo com a clínica.

Não devemos esquecer que, apesar da superioridade comprovada das contagens diferenciais automatizadas, em termos de precisão, fiabilidade, tempo dispendido, economia e sensibilidade clínica em distinguir resultados normais de anormais <sup>(4)</sup>, não se dispensa a revisão de esfregaços nem a complementaridade da informação dada pela contagem manual pelo patologista, particularmente quando necessário categorizar granulócitos imaturos, alterações morfológicas ou a presença de organismos intra ou extracelulares <sup>(4, 7)</sup>.

### Conclusão

As tecnologias laboratoriais actuais permitem uma contagem automatizada fiável dos leucócitos e neutrófilos, tornando-os um auxiliar clínico disponível, rápido e valioso. Torna-se necessária uma leitura correcta dos seus resultados, adequada aos diferentes grupos etários. A criança entre os 6 e os 24 meses de idade pode apresentar contagens totais bem mais elevadas do que as da criança mais velha, sem que isso implique patologia inflamatória. A atenção do médico deve virar-se principalmente para a neutrofilia e a integração desta informação no contexto clínico.

### BIBLIOGRAFIA

1. Altman PL, Dittmer DS (ed.). Blood and other body fluids. Bethesda, Md: Federation of American Societies for Experimental Biology, 1961.
2. Dallman PR. Blood and Blood-forming tissues. In: Rudolph AM (ed). Pediatrics. 16th ed. E. Netwalk, Ct: Appleton-Century-Crofts, 1977.
3. Merenstein GB, Kaplan DW, Rosenberg AA. In: Silver, Kempe, Bruyn & Fulginitis. Handbook of Pediatrics, 16th ed. Los Altos, Ca: Appleton & Lange, 1991.
4. Guladi GL, Hyun BH, Ashton JK: Advances of the past decade in automated hematology. *Am J Clin Pathol*; 1992, 98 (suppl 1): s11-s16.
5. Virella D: «Prevalência da carência de ferro nas crianças de 6 a 24 meses de idade do Concelho de Cascais». Tese de dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa, 1994.
6. Virella D, Esperança Pina MJ: «Ferropénia na primeira infância num concelho da Grande Lisboa». *Rev Port Saúde Pública*, 1997; 3 (no prelo).
7. Lacombe C, Picard F, Levy JP: evaluation of the coulter maxm in a children's hospital. *Nouv Rev Fr Hematol*; 1994, 36(5): 343-8.
8. Behrman RE (ed). Nelson Textbook of Pediatrics. 14th ed. Philadelphia, WG Saunders, p1232, 1992.