

Estudio comparativo de parámetros del eritrograma del Coulter STKS y del Sysmex XE-2100D

Comparative study on erythrogram parameters of Coulter STKS vs. Sysmex XE-2100D

Estudo comparativo de parâmetros de eritrograma do Coulter STKS e do Sysmex XE-2100D

► Railson Henneberg¹, Aguinaldo José do Nascimento², Domenic V. Cicchetti³, Aline Emmer Ferreira⁴, Camila Andrade Pedrassani⁵, Mariana Franco Monteiro⁵

¹ MSc. Profesor asistente - Departamento de Patología Médica de la Universidad Federal de Paraná.

² PhD. Profesor senior – Programa de Pos-graduación en Ciencias Farmacéuticas de la Universidad Federal de Paraná.

³ PhD. Profesor senior – Departamento de Biometría, *Yale University School of Medicine, New Haven, CT 06512, USA*

⁴ Farmacéutica – Laboratorio Escola – Curso de Farmacia de Universidad Federal de Paraná.

⁵ Académicas de curso de Farmacia da Universidad Federal de Paraná.

Curso de Farmácia da Universidade Federal do Paraná

Av. Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico 802210-170, Curitiba, PR

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Acta Bioquím Clín Latinoam 2011; 45 (4): 757-62

Resumen

Los analizadores de hematología ofrecen varios parámetros que se pueden obtener de maneras distintas, en conformidad con el modelo o la marca de los mismos. En el presente trabajo se estudian dos equipos automatizados, analizadores Coulter STKS y Sysmex XE-2100D, y se evalúan de manera comparativa los parámetros del eritrograma en 383 personas elegidas al azar, en el *Hospital de Clínicas*, de la *Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil*. Todos los parámetros estudiados, excepto la CHCM, presentaron un buen coeficiente de correlación entre los dos equipos. Los parámetros hematocrito (HCT), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) presentaron menos de 4% de error entre los valores promedio, sin embargo, con significación estadística (ANOVA). El VCM y el CHCM presentaron alto grado de imprecisión ($1-R^2$), que podría explicarse por las diferentes formas que HCT y VCM son obtenidos por los equipos. Los resultados obtenidos en este trabajo destacan la necesidad del conocimiento de las metodologías en los dispositivos automáticos para la obtención de los parámetros del eritrograma, por parte de los profesionales que trabajan en el área de hematología.

Palabras clave: hematología * recuento de células sanguíneas * automatización * concentración de hemoglobina corpuscular media * Índices hematimétricos

Summary

Hematology analyzers provide several parameters that can be obtained in a distinct way, in accordance with the model or brand name. In the present work, two automated hematology equipment Coulter STKS and Sysmex XE-2100D analyzers are studied, evaluating, in a comparative way, the erythrogram parameters.

of 383 individuals, chosen randomly at the Hospital de Clínicas of the Universidade Federal do Paraná. All the studied parameters, except the HCMC, had presented a good correlation coefficient for the equipments. The HCT, MCV, MCH and HCMC parameters presented less than 4% error between the average values, although, with statistical significance (ANOVA). MCV and HCMC presented a high degree of imprecision ($1-R^2$) that could be explained by the different ways HCT and MCH are obtained through the equipments. The results obtained in this work underline the fact that knowledge of the methodologies in the automated devices is necessary for attaining the erythrogram parameters by professionals who work in the area of hematology.

Key words: hematology * blood cell count * automation * mean corpuscular hemoglobin concentration * hematimetric indices

Resumo

Os analisadores de hematologia oferecem vários parâmetros que podem ser obtidos de diversas maneiras, de conformidade com o modelo ou a marca dos mesmos. No presente trabalho são estudadas dois equipamentos automatizados, analisadores Coulter STKS e Sysmex XE-2100D, e são avaliados de maneira comparativa os parâmetros do eritrograma em 383 pessoas escolhidas ao acaso, no Hospital de Clínicas, da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil. Todos os parâmetros estudados, exceto a CHCM, apresentaram um bom coeficiente de correlação entre os dois equipamentos. Os parâmetros hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) apresentaram menos de 4% de erro entre os valores médios, entretanto, com significação estatística (ANOVA). O VCM e o CHCM apresentaram alto grau de imprecisão ($1-R^2$), que poderia ser explicado pelas diferentes formas em que HCT e VCM são obtidas pelos equipamentos. Os resultados obtidos neste trabalho destacam o fato de que é necessário o conhecimento das metodologias nos dispositivos automáticos para a obtenção dos parâmetros do eritrograma, por parte dos profissionais que trabalham na área de hematologia.

Palavras chave: hematologia * recontagem de células sanguíneas * automatização * concentração de hemoglobina corpuscular média * Índices hematimétricos

Introducción

Desde la aplicación del principio de impedancia eléctrica para el recuento celular ideado y desarrollado por Wallace Coulter en las décadas de 1940 y 1950, los analizadores hematológicos han ofrecido nuevas tecnologías para el recuento y el análisis celular, que en un sentido práctico significan una mejora respecto del conteo manual que es laborioso y con poca normatización(1).

En los analizadores de Hematología, las células sanguíneas son analizadas y diferenciadas por sus características físicas (tamaño, por ejemplo). Con el avance de las tecnologías de análisis celular, las células con alguna anomalía característica, que previamente sólo eran detectadas, actualmente pueden ser contadas(2), lo que permitió la introducción de nuevos parámetros eritrocitarios, como el porcentaje de micronucleados hipocrómicos, hipercrómicos, microcíticos y macrocíticos, y la cantidad de eritrocitos nucleados, que puede ser útil en la clínica de enfermedades hematológicas (3).

Dependiendo del método utilizado, estos índices pueden ser obtenidos directamente o calcularse a partir de

parámetros definidos. Básicamente, los métodos automatizados de recuento celular están basados en el principio de la impedancia eléctrica o en la dispersión de la luz (tecnología láser) (4).

El analizador hematológico Coulter STKS utiliza la impedancia eléctrica de baja frecuencia, con sistemas de arrastre continuo, que impide recuentos repetidos de células para la determinación de hemáties y del MCV. Otros parámetros (HCM, CHCM y hematócrito) se calculan a partir de las cantidades de eritrocitos, los volúmenes y las concentraciones de hemoglobina. El modelo Sysmex XE-2100D corresponde a un analizador hematológico de 32 parámetros que utiliza los principios de la impedancia eléctrica de alta frecuencia, colorimetría sin cianuro (lauril sulfato de sodio) y citometría de flujo para recuento de los leucocitos, reticulocitos y eritroblastos.

En el presente trabajo se comparan dos generaciones distintas de analizadores hematológicos, el más antiguo y discontinuado, pero aún en uso, Coulter modelo STKS, fabricado por Coulter®, y los analizadores Sysmex XE-2100D. El objetivo de este trabajo fue: señalar a los profesionales que trabajan con estos analizadores la importancia del conocimiento, de sus tecnologías, las formas

de obtención de los parámetros y las posibles limitaciones según el equipo, con el fin de aumentar o disminuir la eficacia de su uso como ayuda en el diagnóstico de algunas enfermedades hematológicas.

Materiales y Métodos

Se obtuvieron muestras de sangre venosa recogidas con EDTA K₃, a partir de 383 pacientes elegidos al azar y sin discriminar edad ni sexo, que concurrieron al Hospital de Clínica de la Universidad Federal do Paraná (HC-UFPR). Los datos del eritrograma se obtuvieron del sector de Hematología del Laboratorio de Análisis Clínicos del HC-UFPR y fueron analizados en los equipos Sysmex XE-2100D y Coulter STKS, de acuerdo a lo sugerido por los protocolos para evaluación de precisión de los métodos de medición cuantitativa (EP5-A2) del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico y del Comité Internacional para la Estandarización en Hematología. Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente (18 - 20

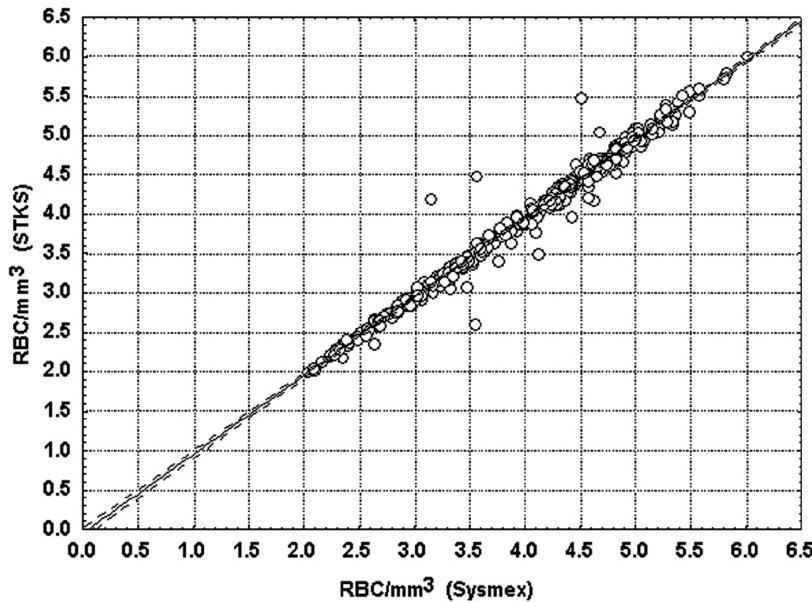
°C) entre 30 min y 4 h luego de su obtención hasta el momento en que las evaluaciones fueron realizadas en los dos analizadores, calibrados en el día de acuerdo con las instrucciones suministradas por los fabricantes.

Las variables hematimétricas analizadas fueron: Glóbulos rojos (hematíes/eritrocitos), Hb (hemoglobina); HCT (hematocrito); VCM (volumen corpuscular medio); HCM (hemoglobina corpuscular media); CHCM (concentración de hemoglobina corpuscular media) y RDW (amplitud de distribución eritrocitaria).

Los datos obtenidos del Coulter STKS y del contador Sysmex XE-2100D se analizaron mediante ANOVA de un factor y correlación de Pearson. La significación estadística se fijó en el nivel estándar $p < 0,05$.

Resultados

En la Tabla I se resumen las principales características de las metodologías automatizadas por los equipos Sysmex XE-2100D y Coulter STKS.



Los datos se ajustan a la ecuación lineal $y = -0,0427 + 0,9999 * x$; $R = 0,9885$; $p = 0,00001$; $R^2 = 0,9771$
RBC: eritrocitos

Figura 1. Datos del recuento de eritrocitos en el equipo Coulter STKS representados en función de los datos obtenidos en el contador Sysmex XE-2100D.

Tabla I. Principales características de los equipos Sysmex XE-2100D y Coulter STKS

Analitos	Sysmex XE-2100D	Coulter STKS
Eritrocitos	impedancia eléctrica con flujo hidrodinámico	impedancia eléctrica sin flujo hidrodinámico
Hemoglobina	Lisis: lauril sulfato de sodio	Lisis: Cianmetahemoglobina
Hematocrito	Suma directa de impulsos eléctricos	Calculado
VCM	Calculado	Impedancia eléctrica
HCM	Calculado	Calculado
CHCM	Calculado	Calculado

VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media

Con el fin de observar si los contadores hematológicos Coulter STKS y XE-2100D Sysmex daban resultados similares para las mediciones del eritrograma, se compararon las varianzas con el ANOVA de un factor para cada analito. Los resultados se ilustran en la Tabla II e indican las diferencias que son estadísticamente significativas para los analitos HCT, VCM, HCM y CHCM. La variabilidad de los datos (error al azar) para los dos equipos está ilustrada en la Tabla III.

Utilizando la correlación de Pearson como se ilustra en la Figura 1, se compararon los datos obtenidos de los contadores Sysmex XE-2100D y Coulter STKS. Los resultados para todos los analitos estudiados están ilustrados en la Tabla IV. Con la excepción de CHCM, todos los analitos mostraron un buen coeficiente de correlación

para los equipos. El error al azar entre los dos equipos ($1-R^2$) fue: 80% para CHCM, 23% para VCM, 19% para HCM, 7% para RDW, y 2 a 3% para eritrocitos, Hb y HCT. El error sistemático (1-b) indicó sólo pequeñas diferencias entre los dos analizadores (de 0 a 9,9%), excepto para las mediciones de CHCM (52%).

Discusión y Conclusiones

El volumen medio de eritrocitos y las concentraciones de hemoglobina son índices utilizados para caracterizar a los pacientes con anemia, desde la época de Wintrobe, a principios de la década de 1930. Estos parámetros sirven de base para clasificar la mayoría de las anemias y an-

Tabla II. ANOVA de un factor para la comparación de los datos de eritrograma obtenidos con analizadores Coulter STKS y Sysmex XE-2100D y sus respectivos rangos de referencia.

Analitos	Equipos	ANOVA p	Intervalos de referencia	
RBC (/mm ³)	XE-2100D	0,4921	2,3	5,4
	STKS		2,3	5,4
Hb (g/dL)	XE-2100D	0,0766	7,1	16,1
	STKS		6,9	16,0
HCT (%)*	XE-2100D	0,0064	21,4	46,8
	STKS		19,9	46,1
VCM (fl)*	XE-2100D	0,0000	73,5	104,4
	STKS		69,2	98,9
HCM (pg)*	XE-2100D	0,0202	22,3	34,1
	STKS		21,9	34,3
CHCM (g/dL)*	XE-2100D	0,0000	29,8	35,8
	STKS		30,4	36,4
RDW (%)	XE-2100D	0,8315	12,2	31,7
	STKS		12,0	22,8

*- Diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, $p < 0,05$);
 p: probabilidad de error para la hipótesis nula.
 RBC: eritrocitos, Hb - hemoglobina; HCT: hematocrito; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; y RDW: amplitud de distribución eritrocitaria.

Tabla III. Variabilidad promedio intra- y inter-día para los datos del eritrograma obtenidos a partir de contadores Sysmex XE-2100D y Coulter STKS.

Analitos	SYSMEX		STKS	
	intra-día	inter-día	intra-día	inter-día
RBC/mm ³	3,99 ± 0,83 (20,8%)	3,97 ± 0,87 (21,8%)	3,90 ± 0,86 (21,9%)	3,97 ± 0,87 (21,8%)
HGB (g/dL)	11,83 ± 2,43 (20,6%)	11,74 ± 2,51 (21,4%)	11,37 ± 2,37 (20,8%)	11,74 ± 2,51 (21,4%)
HCT (%)	35,61 ± 6,94 (19,5%)	35,40 ± 7,16 (30,2%)	33,81 ± 6,95 (20,5%)	35,40 ± 7,16 (20,2%)
MCV (fL)	90,0 ± 7,27 (8,1%)	89,91 ± 7,49 (8,3%)	87,09 ± 7,36 (8,4%)	89,91 ± 7,49 (8,3%)
MCH (pg)	29,82 ± 2,64 (8,9%)	29,78 ± 2,70 (9,1%)	29,36 ± 2,68 (9,1%)	29,78 ± 2,70 (9,0%)
MHCH (g/dL)	33,12 ± 1,49 (4,5%)	33,09 ± 1,56 (4,7%)	33,60 ± 1,33 (3,9%)	33,09 ± 1,56 (4,9%)
RDW (%)	14,88 ± 2,39 (15,9%)	15,07 ± 2,56 (16,7%)	15,02 ± 2,74 (18,2%)	15,07 ± 2,56 (16,9%)

RBC: eritrocitos, Hb - hemoglobina; HCT: hematocrito; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; y RDW: amplitud de distribución de eritrocitos.
 Media ± desvío estándar (Coeficiente de variación)
 Fueran procesadas cerca de 50 muestras al día con los dos equipos.

Tabla IV. Análisis de regresión para los datos del eritrograma obtenidos a partir de contadores Sysmex XE-2100D y Coulter STKS.

Analitos	Regresión		Correlación		Errores	
	a	b	R	p	1-R ²	1-b
RBC (/mm ³)	-0,043	1,000	0,989	0,0000	0,023	0,000
Hb (g/dL)	0,115	0,963	0,988	0,0000	0,024	0,037
HCT (%)*	-0,382	0,971	0,985	0,0000	0,030	0,029
MCV (fL)*	6,022	0,901	0,877	0,0000	0,230	0,099
MHC (pg)*	0,605	0,964	0,898	0,0000	0,194	0,036
MCHC (g/dL)*	17,768	0,478	0,446	0,0000	0,801	0,522
RDW (%)	-0,765	1,047	0,966	0,0000	0,067	-0,047

a: Coeficiente lineal; b: coeficiente angular;
R: Coeficiente de correlación de Pearson;
(1-R²): Error al azar; (1-b): Error sistemático;
*: Diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, $p < 0,05$).
RBC: eritrocitos, Hb - hemoglobina; HCT: hematocrito; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; y RDW: amplitud de distribución de eritrocitos.

tes de la llegada de la automatización el VCM y la CHCM se calculaban de las cantidades de hemoglobina, del recuento de eritrocitos y del volumen globular obtenidos manualmente (5).

Los parámetros analizados (VCM, HCT, HCM y CHCM) tuvieron, en promedio, diferencias estadísticamente significativas para los dos analizadores (Tabla II). Con respecto a VCM y HCT las diferencias pueden explicarse por la manera en que tales índices se obtienen. En el analizador Sysmex XE-2100D, el HCT se determina directamente por la suma de los pulsos de todos los eritrocitos verificados en el volumen de la muestra analizada, mientras que en el analizador Coulter STKS se calcula a partir del VCM, que se evalúa directamente. Se sabe que los cambios en la forma de las células rojas anormalmente deformes afectan a la estimación de CHCM (6) en los analizadores de impedancia. Esta dificultad se debe a la forma bicóncava de los eritrocitos y a su deformabilidad típica, cuando se encuentran en un flujo de líquido de velocidad moderada (7).

La tensión de cizallamiento en los eritrocitos causa deformación celular y la deformación es inversamente proporcional a la viscosidad, que a su vez, depende de la concentración de hemoglobina. Por lo tanto, cuanto mayor sea el valor de CHCM, mayor será la viscosidad celular, y, en consecuencia, menor será la deformación de la célula (8) (9). De este modo, la concentración de hemoglobina en los eritrocitos afecta directamente a la imprecisión y la inexactitud de la CHCM calculada por los analizadores hematológicos. Una menor deformabilidad conduce a un área más grande de medición, lo que sobreestima el VCM. Como la CMHC se calcula a partir del VCM, su valor está subestimado en estas situaciones. En una condición de hipocromía, el comportamiento de estos parámetros se invierte. Algunos autores llaman a esta particularidad de la impedancia eléctrica de la metodología "efectos de forma" (5) (10) (11).

Por lo tanto, los "efectos de forma" pueden explicar el coeficiente de correlación bajo y la inexactitud que el VCM presentó en los datos obtenidos por los dos analizadores (Tabla IV). En la comparación de las tecnologías utilizadas por los dos analizadores hematológicos para el VCM, la diferencia radica en el uso o no del enfoque hidrodinámico. El equipo Sysmex XE-2100D utiliza la impedancia eléctrica con un enfoque hidrodinámico, mientras que el analizador Coulter STKS no. Este aspecto también puede explicar el comportamiento del VCM observado en este trabajo, ya que la introducción del enfoque hidrodinámico en los dispositivos que utilizan la impedancia eléctrica, como en los equipos Sysmex SE 9500, parece reducir el efecto de la deformabilidad eritrocitaria (5).

La CHCM fue el parámetro que presentó un mayor grado de inexactitud e imprecisión para los dos analizadores (Tabla IV). Por otra parte, este comportamiento también puede explicarse por los "efectos de forma", ya que la falta de precisión en la determinación de los volúmenes de eritrocitos ejerce su influencia en los resultados de la CHCM. Esto demuestra que en situaciones reales de hipo e hipercromía, el CHCM pierde su utilidad diagnóstica, según lo indicado por el amplio rango de variaciones en sus valores (7).

Paterakis *et al.* (12) demostraron la importancia de los "efectos de forma" en los parámetros del eritrograma en cinco diferentes analizadores hematológicos. Los equipos que utilizaron el enfoque hidrodinámico (NE-8000 Sysmex y H * 1 Bayer), no presentaron la influencia de los "efectos de forma" sobre los índices hematimétricos. Por otra parte, usando los analizadores Coulter STKR, Cell-Dyn 3000 y Sysmex KX-1000, que no utilizan el enfoque hidrodinámico en el canal de recuento de los eritrocitos, se observó poca correlación en la CHCM automatizada frente a la CHCM obtenida manualmente (método de referencia).

Hay un cierto desacuerdo entre los autores respecto al mejor parámetro que define hipo- o hiper Cromía en los eritrocitos (13-15). Van Hove *et al.* (8), analizando el perfil automático de CHCM en algunos equipos de la línea Abbott frente a la CMHC manual, basado en la concentración de hemoglobina y el micro hematocrito, como método de referencia, llegaron a la conclusión de que el Cell-Dyn 4000 y Cell-Dyn 3200, analizadores que utilizan el enfoque hidrodinámico, mostraron una excelente correlación con la CHCM manual. Por otra parte, el analizador Cell-Dyn 3700, que no utiliza la centralización de las células, no presentó el mismo comportamiento, lo que demuestra una baja sensibilidad para identificar situaciones de hipocromía. Es opinión de los autores, el uso o no de la HCM o de la CHCM como parámetros de evaluación del color de los eritrocitos depende de la metodología para la obtención de estos índices. En base a los resultados de estos autores, se puede sugerir que la CHCM del analizador Sysmex XE-2100D tiene mayor sensibilidad que el parámetro de la evaluación del color de eritrocitos que hace el equipo Coulter STKS, debido principalmente a la utilización del enfoque hidrodinámico en el equipo Sysmex.

Es muy importante para los médicos y otros profesionales en el sector de la hematología estar al día con las metodologías utilizadas en los analizadores hematológicos, sus niveles de imprecisión y del comportamiento de los diversos parámetros que los dos analizadores proveen a las actividades diarias del laboratorio. Por lo tanto, los resultados obtenidos aquí son muy útiles para demostrar la importancia del conocimiento práctico de los dos analizadores mencionados en este informe.

CORRESPONDENCIA

RAILSON HENNEBERG
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal do Paraná
Av. Lothário Meissner, 632,
Jardim Botânico
802210-170, CURITIBA, PR
E-mail: railson@ufpr.br

Referencias bibliográficas

1. Corrons JLV. Introducción al estudio de la anemia. Aspectos generales del diagnóstico. En: J. Sans-Sabrafen. Hematología Clínica, 3th ed, Madrid, España: Mosby-Doyma SA; 1994.
2. Briggs C. Quality counts: new parameters in blood cell counting. *Int J Lab Hem* 2009; 31: 277-97.
3. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon, A. Spurious counts and spurious results on hematology analysers: a review. Part I: platelets. *Int J Lab Hem* 2007; 29: 4-20.
4. Corash L. Laboratory Hematology: Methods for the Analysis of Blood. In: Handin RI, Stossel TP, Lux S. Blood: principles and practice of hematology. Philadelphia: Lippincott Company; 1995. p. 23-59.
5. Mohandas N, Kim YR, Tycko DH, Orlik J, Wyatt J, Groner W. Accurate and independent measurement of volume and hemoglobin concentration of individual red cells by laser light scattering. *Blood* 1986; 68: 506-13.
6. Kickler TS. Clinical analysers advances in automated cell counting. *Anal Chem* 1999; 71: 363-5.
7. Kim YR, Ornstein L. Isovolumetric spherizing of erythrocytes for more accurate and precise cell volume measurement by flow cytometry. *Cytometry* 1983; 3 (6): 419-27.
8. Van Hove L, Schisano T, Brace L. Anemia diagnosis, classification, and monitoring using Cell-Dyn technology reviewed for the new millennium. *Lab Hematol* 2000; 6: 93-108.
9. Rappaz B, Barbul A, Emery Y, Korenstein R, Depersingne, Magistretti, PJ, Marquet P. Comparative study of human erythrocytes by digital holographic microscopy, confocal microscopy, and impedance volume analyser. *Cytometry* 2008; 73A: 895-903.
10. Kachel V. Electrical resistance pulse sizing (Coulter sizing). In: Melamed MR, Mullaney PF, Mendelsohn ML. *Flow Cytometry and Sorting*. New York: Wiley; 1979. p.104.
11. Bator JM, Groves MR, Price BJ, Eckstein EC. Erythrocyte deformability and size measured in a multiparameter system that includes impedance sizing. *Cytometry* 1984; 5: 34.
12. Paterakis GS, Laoutaris NP, Alexia SV, Siourounis PV, Stamulakatu AK, Premetis EE, *et al.* The effect of red cell shape on the measurement of red cell volume: A proposed method for comparative assessment of this effect among various hematology analyzers. *Clin Lab Haematol* 1994; 16 (3): 235-45.
13. Failace R. Eritrograma. In: Failace R. Hemograma: Manual de Interpretación. 4th ed. Porto Alegre: Artmed; 2003. p. 39-54.
14. Nascimento MLP. Concentração de Hemoglobina Globular Média (CHCM%) não é o melhor indicador de hipocromia. *Rev LAES & HAES*; 2004; 147:130-41.
15. Silva PH, Hashimoto Y, Alves HB. Hematologia Laboratorial. Rio de Janeiro: Revinter; 2009.

Aceptado para su publicación el 30 de agosto de 2011