



Hospital Universitário Professor Edgar Santos – HUPES
Comissão de Residência Médica – COREME
Programa de Residência Médica em
Hematologia e Hemoterapia

Aspectos técnicos e citomorfológicos relativos à medula óssea – Uma
revisão de literatura.

Salvador – BA

2024

Título: Aspectos técnicos e citomorfológicos relativos à medula óssea – Uma revisão de literatura.

Autores: Leonardo Fernandes e Santana¹, Márcia Maria Lima Santos¹

¹ Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Salvador, BA

Órgão financiador: os próprios autores

Endereço eletrônico para correspondência: leonardofernandes94@gmail.com

SUMÁRIO

1. Resumo	04
2. Introdução.....	05
3. Objetivo.....	06
4. Método	06
5. Citomorfologia	07
5.1 Série vermelha	07
5.1.1 Diseritropoiese.....	08
5.2 Série granulocítica.....	10
5.2.1 Disgranulopoiese.....	11
5.3 Série monocítica	12
5.4 Série linfoplasmocitária	13
5.4.1 Atipias / anomalias linfoplasmocitárias	14
5.5 Série megacariocítica	16
5.5.1 Dismegacariopoiese	17
5.6 Parasitas intramedulares	18
6 Laudo do mielograma.....	19
7 Anexo	21
8 Bibliografia.....	41

1 RESUMO

A medula óssea (MO) é um tecido complexo localizado nas cavidades dos ossos, sendo o principal local onde ocorre a hematopoiese, o processo contínuo de formação das células sanguíneas a partir das células-tronco hematopoéticas (CTH). A MO é composta por células hematopoéticas e por células não hematopoéticas. Esse microambiente contém células da linhagem osteoblástica, adipócitos e células endoteliais, que desempenham funções essenciais na manutenção da homeostase do parênquima medular.

A organização estrutural da MO é fundamental para a hematopoiese, pois oferece nichos especializados que sustentam a autorrenovação e a diferenciação das CTHs. Além de sua função hematopoética, a MO também exerce um papel crucial como órgão linfóide, abrigando diversas populações de linfócitos maduros, como células B, células T, células NK e células linfóides inatas, que desempenham funções tanto na imunidade quanto na regulação celular.

Entre os aspectos essenciais para a avaliação clínica e o tratamento de doenças hematológicas (e algumas não hematológicas), destaca-se a análise citomorfológica dos componentes celulares da medula óssea por meio de microscopia óptica. O objetivo deste trabalho é descrever os aspectos técnicos e citomorfológicos que envolvem a análise da medula óssea.

2 INTRODUÇÃO

O processo de formação das células do sangue é denominado hematopoiese. Suas funções principais incluem a renovação das células sanguíneas para manter os níveis fisiológicos adequados na circulação e a adaptação às necessidades patológicas que possam surgir¹.

A medula óssea (MO) é um órgão complexo localizado nas cavidades dos ossos, sendo o principal local da hematopoiese. As células-tronco pluripotentes presentes na MO têm a capacidade de se diferenciar em qualquer linhagem hematológica, seja mieloide ou linfoide. Cada célula-tronco pluripotente gera duas novas células: uma permanece no compartimento pluripotente, enquanto a outra, de forma aleatória, se diferencia e amadurece, originando eritrócitos, leucócitos ou plaquetas. O processo que mantém o compartimento pluripotente é chamado autorrenovação, sendo essencial para preservar o estoque de células-tronco¹⁻².

A regulação da hematopoiese depende de fatores estimuladores de crescimento e fatores inibidores, que atuam por meio de receptores na superfície celular. Para que a hematopoiese ocorra adequadamente, a medula óssea deve apresentar condições básicas, como a presença de células parenquimatosas, responsáveis pela formação das células sanguíneas, e um microambiente adequado, composto por células estromais e matriz extracelular²⁻³.

As células estromais, como fibroblastos, células endoteliais, células reticulares, células adiposas, macrófagos e linfócitos T, produzem os fatores de crescimento necessários. A matriz extracelular, por sua vez, fornece sustentação ao tecido parenquimatoso e estromal, além de produzir moléculas de adesão que impedem que células imaturas sejam liberadas precocemente da medula óssea para a circulação sanguínea³⁻⁴.

Para uma adequada compreensão de como condições nosocomiais, de forma primária ou secundária, afetam a homeostase da hematopoiese, torna-se imprescindível, em muitas ocasiões, o exame da MO. Os dois pilares dessa avaliação envolvem dois tipos de espécimes¹:

1. **Aspirado de medula óssea:** Obtido por distensão em lâmina e submetido à coloração, permite uma análise detalhada da morfologia e a contagem diferencial das diversas linhagens de células precursoras do sangue. Esse procedimento é rotineiramente denominado mielograma¹.
2. **Biópsia de medula óssea:** Avaliação histológica do tecido medular ósseo, especialmente indicada para analisar a celularidade global da medula, a celularidade da série megacariocítica (relacionada às plaquetas), o grau de fibrose medular, casos de aplasia medular e a presença de infiltrações na medula causadas por metástases ou infecções¹.

Apesar de não ser o escopo direto deste trabalho, como pré-requisito para a adequada avaliação do espécime de medula óssea, merece destaque o hemograma, exame de fácil coleta e cujo perfil de células pode refletir aspectos fisiopatológicos dos órgãos de origem e degradação dos diversos elementos celulares. Portanto, deve ser considerado o primeiro passo antes de qualquer análise do aspirado de medula óssea^{1,4}.

3 OBJETIVO

Descrever aspectos técnicos e citomorfológicos que permeiam a análise da medula óssea.

4 MÉTODO

Esta revisão narrativa de literatura foi realizada utilizando como base de dados o PubMed® e títulos da literatura médica em hematologia de renomados autores nacionais e internacionais.

5 CITOMORFOLOGIA

A análise morfológica do aspirado de medula óssea é uma prática essencial na hematologia, desempenhando um papel crucial no diagnóstico e no manejo de diversas doenças hematológicas. Essa análise permite a avaliação detalhada das células nucleadas da medula óssea, sendo fundamental para o diagnóstico de condições como leucemias, neoplasias mielodisplásicas e outras doenças hematológicas e não hematológicas^{1,5,6,7}.

Além disso, a análise morfológica é frequentemente complementada por outros métodos diagnósticos, como citogenética convencional, hibridização in situ por fluorescência (FISH) e imunofenotipagem por citometria de fluxo, a fim de proporcionar um diagnóstico abrangente e preciso. A integração de dados morfológicos com essas técnicas auxiliares aprimora a precisão diagnóstica e a estratificação de risco em doenças hematológicas⁶⁻⁹.

5.1 SÉRIE VERMELHA

Os precursores eritroides normais na medula óssea apresentam características morfológicas distintas em diferentes estágios de maturação. A eritropoiese terminal humana inicia-se com os proeritroblastos, que são as primeiras células morfológicamente reconhecíveis. Esses proeritroblastos são grandes, possuem um núcleo redondo e citoplasma basofílico devido à alta concentração de RNA ribossômico¹⁰⁻¹¹.

À medida que os proeritroblastos se diferenciam em eritroblastos basofílicos, o citoplasma permanece basofílico, enquanto a cromatina começa a se condensar. Os eritroblastos policromatofílicos sucedem este estágio, apresentando um citoplasma que adquire uma coloração mais acinzentada devido à síntese de hemoglobina, enquanto a cromatina continua a se condensar, assumindo um aspecto mais maduro¹⁰.

Os eritroblastos ortocromáticos constituem o estágio seguinte, caracterizados por um citoplasma que adquire tonalidades que variam de acinzentado a levemente eosinofílico, à medida que a concentração de hemoglobina aumenta. Nesse estágio, o material nuclear torna-se ainda mais condensado, sendo eventualmente expelido durante o processo de enucleação. Esse processo é crucial para a formação dos reticulócitos, formas imaturas dos glóbulos vermelhos que entram na circulação¹⁰⁻¹¹.

Essas características morfológicas acompanham mudanças funcionais e moleculares, como a expressão de marcadores de superfície específicos que podem ser utilizados para isolar e estudar essas células em diferentes estágios de desenvolvimento. A identificação precisa e a caracterização dos precursores eritroides são essenciais para compreender tanto a eritropoiese normal quanto as desordens associadas, como as síndromes mielodisplásicas¹¹.

O escalonamento maturativo normal da série eritroide está ilustrado na Figura 01.

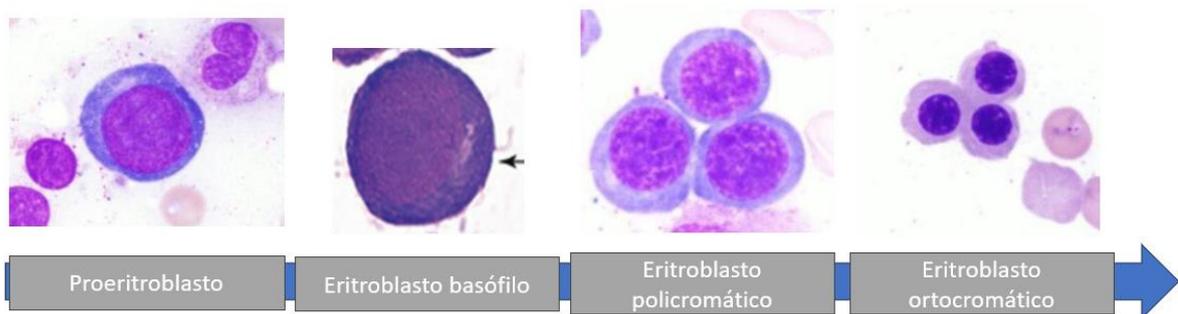


Figura 01. Escalonamento maturativo da série vermelha.

O quadro 01. Representa características gerais da série eritroide.

Quadro 01.

Célula	Diâmetro	Relação N/C	Cromatina	Nucléolo	Citoplasma
Proeritroblasto	16-20µm	Alta	Delicada	Presentes	Moderadamente basofílico. “ <i>Blebs</i> ” podem estar presentes
Eritroblasto basófilo	14-18 µm	Baixa	Condensada	Ausentes	Intensamente basofílico Área perinuclear clara evidente
Eritroblasto Policromático	12-15 µm	Baixa (menor que anterior)	Condensada, heterogênea	Ausentes	Tonalidade entre basofílico ao azul-acinzentado
Eritroblasto Ortocromático	8-12 µm	Baixa (menor que anterior)	Densa, mais homogênea	Ausentes	Tonalidade entre azul-acinzentado (levemente basofílico) e alaranjado (acidófilo)

5.1.1 DISERITROPOIESE

A diseritropoiese é caracterizada por diversas alterações morfológicas nos precursores eritroides da medula óssea, frequentemente associadas a síndromes mielodisplásicas e outras neoplasias mieloides. Os sinais de diseritropoiese incluem:

1. **Multinuclearidade:** presença de eritroblastos com múltiplos núcleos.
2. **Megaloblastose:** eritroblastos com características megaloblásticas, ou seja, células maiores com material nuclear imaturo.
3. **Anormalidades nucleares:** incluem divisão nuclear incompleta, distorção nuclear e presença de pontes nucleares.
4. **Vacuolização citoplasmática:** presença de vacúolos no citoplasma dos precursores eritroides.
5. **Sideroblastos em anel:** eritroblastos com depósitos de ferro em torno do núcleo. Para essa avaliação, deve-se utilizar a coloração de Perls.

Esses achados devem ser interpretados no contexto clínico e em conjunto com outros dados laboratoriais, pois a diseritropoiese pode ocorrer em condições distintas além das neoplasias mielodisplásicas¹²⁻¹⁴. A figura 02 ilustra os principais sinais de diseritropoiese.

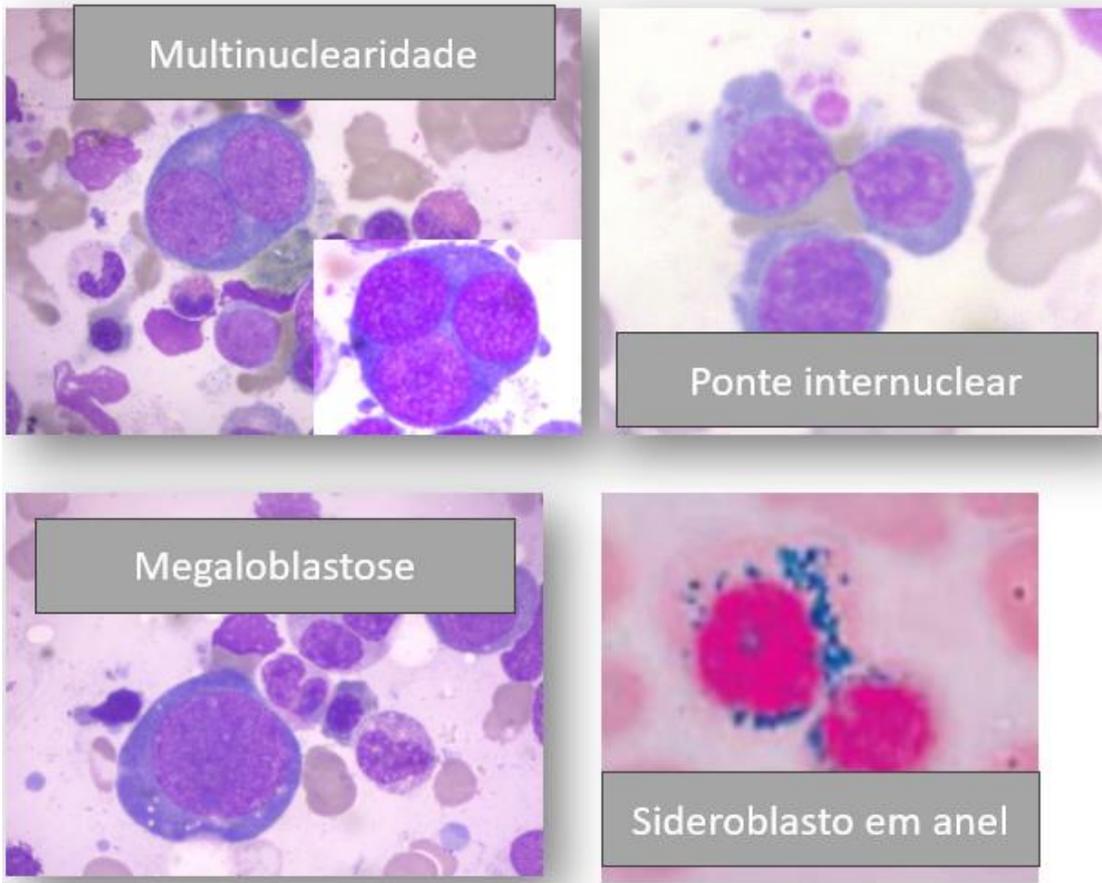


Figura 02. Principais sinais de diseritropoiese.

5.2 SÉRIE GRANULOCÍTICA

A série granulocítica apresenta diversas etapas de maturação, que incluem os mieloblastos, promielócitos, mielócitos, metamielócitos, bastões e, por fim, os neutrófilos segmentados. Cada uma dessas etapas é caracterizada por alterações morfológicas e funcionais específicas¹⁵:

1. **Mieloblastos:** são as células precursoras mais imaturas da série granulocítica. Possuem grande tamanho, núcleo volumoso e citoplasma basofílico, podendo ou não conter grânulos.

2. **Promielócitos:** maiores que os mieloblastos, começam a desenvolver grânulos azurófilos (primários), que correspondem a lisossomos contendo enzimas como a mieloperoxidase.
3. **Mielócitos:** nesta etapa, as células começam a produzir grânulos específicos (secundários), que são característicos dos neutrófilos, eosinófilos ou basófilos. O núcleo começa a se condensar e assume uma forma menos arredondada.
4. **Metamielócitos:** as células tornam-se menores, o núcleo adquire uma forma semelhante a um rim e a produção de grânulos específicos continua.
5. **Bastões:** nesta fase, o núcleo assume a forma de um bastão ou ferradura, indicando que a célula está quase madura.
6. **Neutrófilos segmentados:** representam as células maduras, com um núcleo segmentado em lóbulos conectados por filamentos finos de cromatina. A segmentação nuclear normal varia entre 3 e 4 segmentos.

O escalonamento normal da série granulocítica está ilustrado na figura 03.

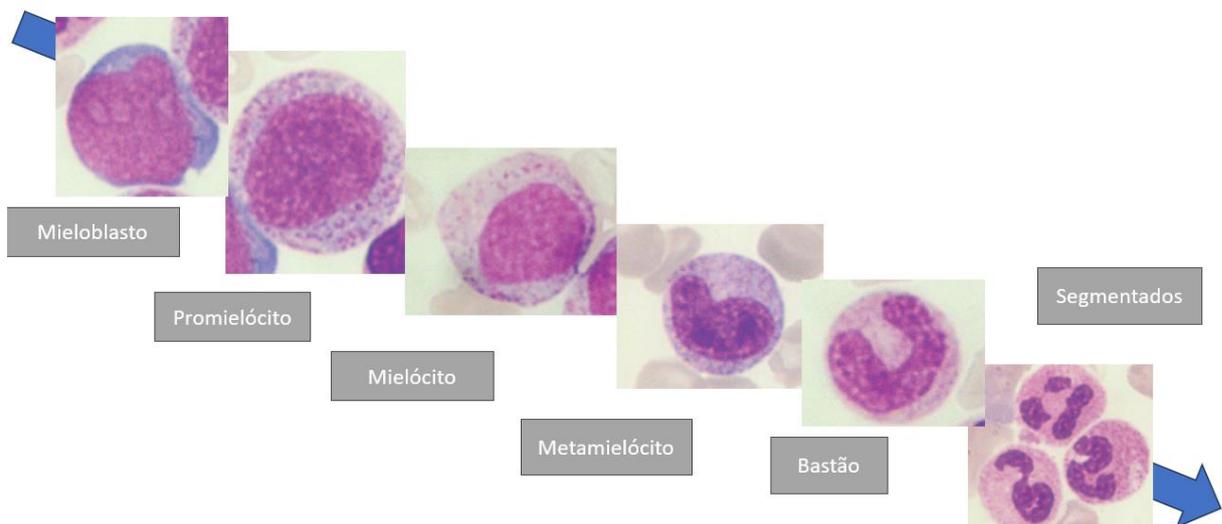


Figura 03. Escalonamento maturativo dos granulócitos neutrófilos.

O quadro 02 ilustra as características gerais dos granulócitos em seus respectivos estágios maturativos. As respectivas variáveis descritas são relativas e comparáveis dentro da própria linhagem.

Quadro 02.

Célula	Diâmetro	Relação N/C	Cromatina	Nucléolo	Citoplasma
Mieloblasto	18-22µm	Alta	Frouxa, delicada, sem grumos, homogênea.	Presentes	Leve a moderadamente basofílico. Granulações azurófilas (primárias) podem estar presentes.
Promielócito	20-30µm	Baixa	Imatura, porém mais densa e grumosa em relação aos blastos.	Presentes	Mantém certa basofilia Halo perinuclear claro Grande número de granulações azurófilas grosseiras, começam a surgir granulações secundárias.
Mielócito	14-20 µm	Baixa (menor que anterior)	grumosa, heterogênea núcleo redondo ou oval, podendo ser levemente indentado, geralmente excêntrico.	Ausentes na maioria das vezes, porém presentes no assincronismo de maturação.	Tonalidade levemente basofílica à rósea. Granulação secundária predominante. Remanescentes grânulos primários podem ocorrer.
Metamielócito	12-16 µm	Baixa (menor que anterior)	Densa, mais heterogênea, grumosa. Núcleo excêntrico, reniforme, raramente central.	Ausentes	Coloração rósea. Numerosos grânulos secundários específicos. Geralmente sem grânulos azurófilos.
Bastão	12-14 µm	Baixa	Mais densa, núcleo em formato de bastão (forma de S, C ou U).	Ausentes	Coloração rósea. Numerosos grânulos secundários específicos.
Segmentado	12-14 µm	Baixa	Densa,	Ausentes	Coloração rósea. Numerosos

			segmentada, lobulada.		grânulos secundários específicos.
--	--	--	--------------------------	--	--------------------------------------

5.2.1 DISGRANULOPOIESE

Na série granulocítica, os sinais de displasia, frequentemente observados em síndromes mielodisplásicas e leucemias mieloides, incluem diversas características morfológicas anormais, as quais se destacam:

1. **Hipogranulação:** redução significativa no conteúdo de grânulos nos neutrófilos.
2. **Anomalia de pseudo Pelger-Huët:** neutrófilos com núcleos bilobados ou hipossegmentados, conhecidos como células pseudo-Pelger.
3. **Macropolicitos:** neutrófilos com mais de quatro projeções nucleares, considerados uma característica displásica relevante.
4. **Clumping anormal da cromatina:** neutrófilos com condensação anormal da cromatina nuclear.
5. **Aumento de mieloblastos** (com ou sem bastonetes de Auer).

É importante notar que nenhuma característica isolada de displasia é exclusiva para o diagnóstico de neoplasia mielodisplásica, e a avaliação deve ser realizada no contexto de outras características clínicas e laboratoriais¹⁵⁻¹⁷. Os principais achados relacionados à disgranulopoiese estão ilustrados na figura 04.

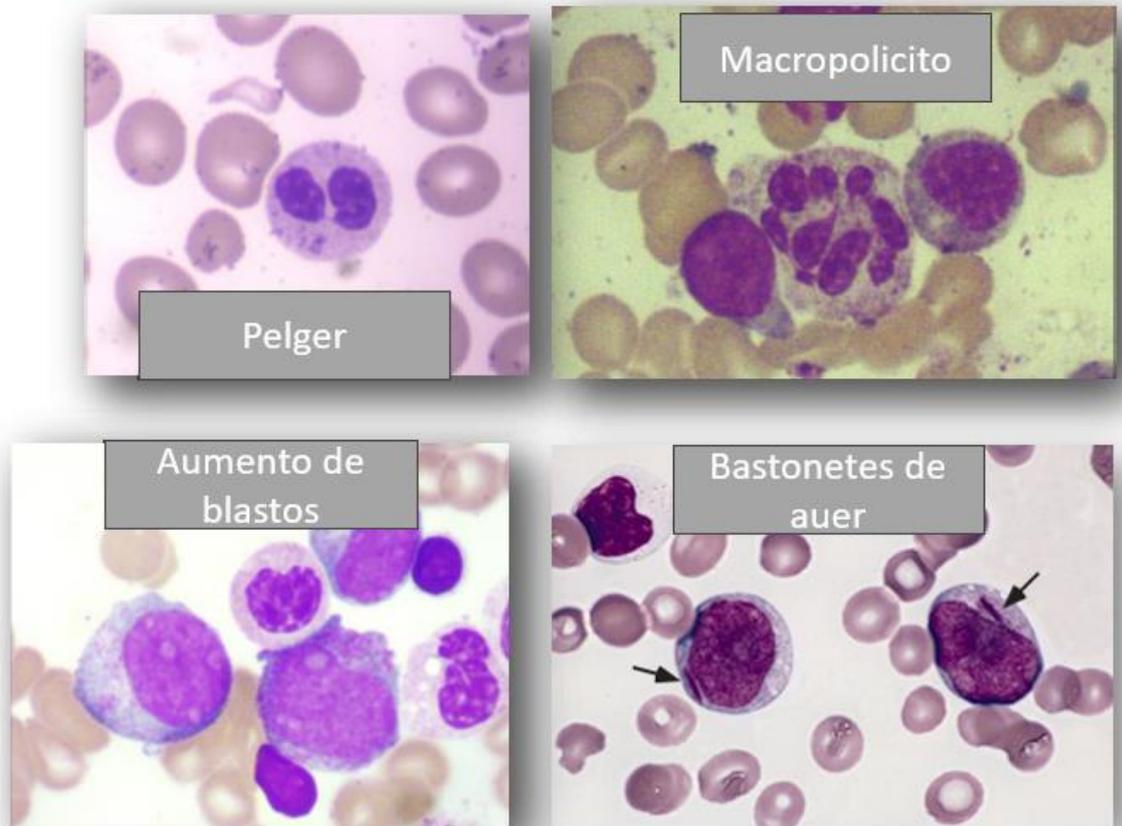


Figura 04. Principais sinais de disgranulopoiese.

5.3 SÉRIE MONOCÍTICA

A série monocítica, desde o monoblasto até o monócito maduro, é caracterizada por uma sequência de maturação que envolve várias etapas distintas, as quais podem ser classificadas da seguinte forma^{15,16}:

1. **Monoblastos:** são as células mais imaturas da série monocítica. Morfologicamente, os monoblastos são quase redondos, com um diâmetro de aproximadamente 10 μm , e possuem um citoplasma fortemente basofílico, quase sem grânulos¹⁷⁻¹⁹.
2. **Promonócitos:** são as células que se desenvolvem a partir dos monoblastos. Os promonócitos continuam a proliferar, com tempos de ciclo celular semelhantes aos dos monoblastos, mas começam a apresentar características mais diferenciadas, como a nucleação convoluta e o

citoplasma com tonalidade mais acinzentada, além da presença de fina e escassa granulação citoplasmática^{17,20,21}.

3. **Monócitos:** são as células finais da série monocítica na medula óssea antes de entrarem na circulação sanguínea. Apresentam citoplasma mais abundante e menos basofílico, e contêm grânulos peroxidase-positivos. São não proliferativos e possuem alta capacidade fagocítica. Um elemento frequentemente observado nos monócitos é a presença de vacúolos citoplasmáticos^{18,21}.

O escalonamento maturativo da série monocítica pode ser observado na figura 05.

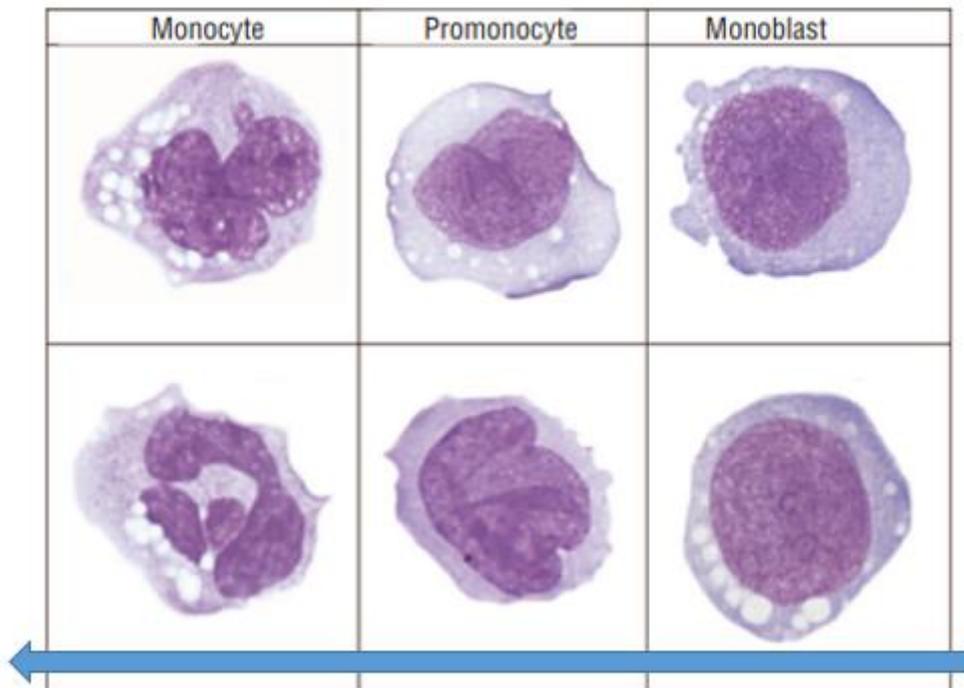


Figura 05. Escalonamento maturativo da série monocítica.

5.4 SÉRIE LINFOPLASMOCITÁRIA

Os linfócitos maduros apresentam tamanhos variados, com diâmetros entre 7 e 18 μm . Sua cromatina é condensada e apresenta grumos, enquanto o núcleo tem um contorno uniforme, regular e geralmente arredondado ou achatado, diferenciando-se do núcleo dos monócitos. Normalmente, não possuem nucléolos visíveis; quando presentes, são pouco distintos. O citoplasma dos linfócitos é escasso, levemente basofílico, podendo conter ou não grânulos azurófilos, especialmente nos linfócitos grandes e granulares (*large granular lymphocytes*)¹.

Morfológicamente, os linfócitos normais são classificados em pequenos, médios e grandes, com ou sem grânulos. Imunologicamente, os linfócitos grandes e granulares podem ser células natural killer (NK) ou linfócitos T citotóxicos. Já os linfócitos sem grânulos têm tamanho pequeno a médio e pertencem aos subtipos B ou T (auxiliares ou citotóxicos)¹¹.

Os plasmócitos, por sua vez, possuem diâmetros entre 12 e 18 μm , com forma arredondada ou oval. Apresentam uma baixa relação núcleo/citoplasma, com núcleo excêntrico de cromatina densa e uniformemente distribuída, contorno regular e formato oval ou redondo, além de um halo claro característico ao redor do núcleo. O citoplasma dos plasmócitos é volumoso, intensamente basofílico (azul escuro) e não contém grânulos. A figura 06 exemplifica, da esquerda para a direita, a morfologia de um linfócito de tamanho médio, além de um linfócito grande e granular, e de um plasmócito, respectivamente^{1,11}.

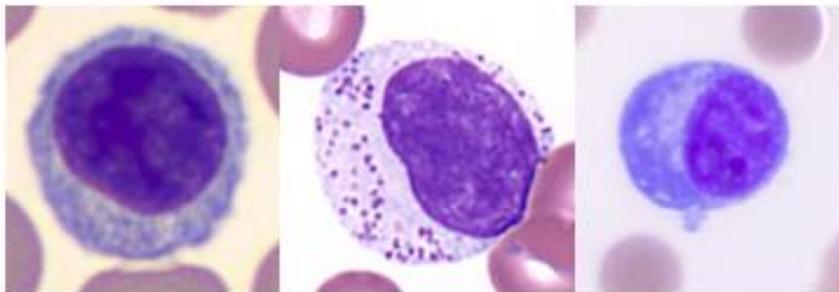


Figura 06. Da esquerda para a direita: linfócito típico, linfócito grande e granular e plasmócito.

5.4.1 ATIPIAS / ANOMALIAS LINFOPLASMOCITÁRIAS

Um aumento de linfócitos medulares acima de 20% em adultos é considerado patológico. Em contraste, em crianças, esses valores podem ultrapassar 35%, o que é considerado normal. Da mesma forma, em idosos com mais de 60 anos, os níveis de linfócitos também podem ser elevados, mas sem indicar uma condição patológica. Em casos de agranulocitose e aplasias mieloides, é observada apenas uma linfocitose relativa. Alterações patológicas, tanto absolutas quanto relativas, podem ocorrer em condições como linfoproliferações crônicas, frequentemente associadas à leucemia linfóide crônica (LLC), e em diversas reações linfocitárias a infecções virais. Características como vacuolização e septação nuclear podem estar presentes em doenças linfoproliferativas^{1,11}.

Uma proporção de plasmócitos superior a 3% é considerada anormal. Essa condição é mais comum em situações como mielomas, nos quais os plasmócitos podem se organizar em ninhos e frequentemente apresentam características atípicas, como células de Mott, corpos de Russell, bi ou multinucleação, plasmócitos jovens grandes e cromatina frouxa, às vezes com nucléolos visíveis. Quando a presença de plasmócitos ultrapassa 60% da celularidade da medula óssea, é possível diagnosticar mieloma múltiplo. A leucemia de células plasmocitárias é caracterizada pela coexistência de plasmocitose medular e plasmocitose periférica, com mais de 2.000 plasmócitos/mm³ ou mais de 20% no sangue^{1,11}.

Na macroglobulinemia de Waldenström (MW), a infiltração medular inclui linfócitos e linfoplasmócitos, frequentemente acompanhados por plasmócitos. Essa condição é equivalente ao linfoma linfoplasmocítico em estágio leucêmico, com a distinção sendo baseada apenas nos níveis de imunoglobulina monoclonal¹.

O diagnóstico diferencial de plasmocitose medular deve considerar condições como leishmaniose visceral, artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico, hepatites, cirrose, uso excessivo de álcool, infecção pelo HIV, linfomas de Hodgkin, reações de hipersensibilidade e sífilis. A figura 07 exemplifica algumas atipias/anomalias linfoplasmocitárias¹.

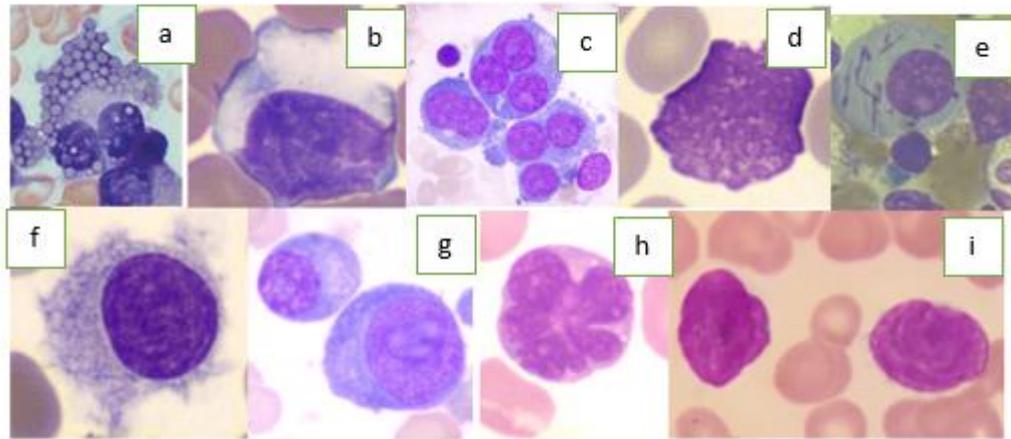


Figura 7. Atipias / anomalias linfoplasmocitárias. a: célula de Mott ; b: linfócito atípico em infecção por citomegalovírus. c: plasmócitos multinucleados; d: sombra nuclear (mancha de gumprecht) na leucemia linfocítica crônica; e: plasmócito com inclusões *auer-like* citoplasmáticas ; f: linfócito da tricoleucemia. G: plasmablasto; h: *flower cell* (linfócito observado na leucemia de células T do adulto associada ao HTLV); i: célula de Sezary

5.5 SÉRIE MEGACARIOCÍTICA

Os megacariócitos são células de grande porte originadas das células-tronco hematopoéticas, responsáveis pela geração de plaquetas. Durante seu processo de maturação, os megacariócitos passam por endomitoses, o que resulta na formação de células poliploides com núcleos multilobulados. O grau de ploidia dessas células pode variar de 2N a 64N, acompanhado por um aumento proporcional no tamanho celular²².

Na medula óssea saudável, os megacariócitos apresentam uma distribuição uniforme e pouca variação em sua forma e tamanho. No entanto, em condições patológicas, como a síndrome mielodisplásica, ocorre dismegacariopoiese, caracterizada por alterações na coloração, na forma e na distribuição celular²³.

A maturação dos megacariócitos também inclui o desenvolvimento de podossomos lineares, estruturas ricas em actina F, que desempenham um papel na remodelação da matriz medular, sem propriedades enzimáticas digestivas. Essa interação com o microambiente da medula óssea é essencial para o preparo dos megacariócitos antes da liberação de plaquetas na circulação²².

Essas características são cruciais para compreender tanto a megacariopoiese normal quanto suas alterações em contextos de doenças. O escalonamento maturativo dos megacariócitos pode ser observado na figura 08.

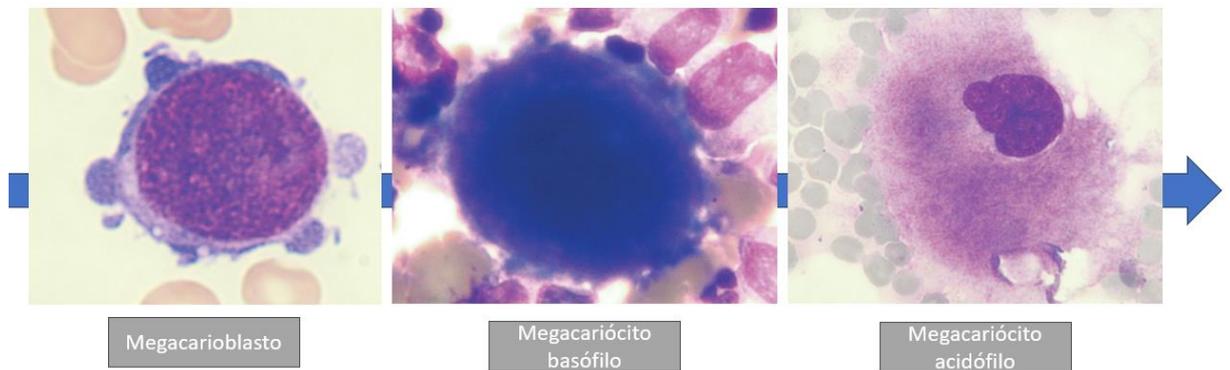


Figura 08. Escalonamento maturativo da série megacariocítica.

5.5.1 DISMEGACARIOPOIESE

A displasia megacariocítica na medula óssea é uma característica importante em neoplasias mielodisplásicas e outras neoplasias mieloides. Os principais sinais de displasia megacariocítica incluem²³:

1. **Micromegacariócitos**: células megacariocíticas anormalmente pequenas.
2. **Megacariócitos hipolobulados**.
3. **Distribuição anormal e formação de aglomerados**: megacariócitos displásicos podem estar distribuídos de forma anormal na medula óssea, frequentemente localizados paratrabecularmente e formando aglomerados, o que não é típico na medula óssea normal.
4. **Núcleo "em balão"**: segmentos nucleares dissociados uns dos outros.

A figura 09 ilustra estigmas de dismegacariopoiese.

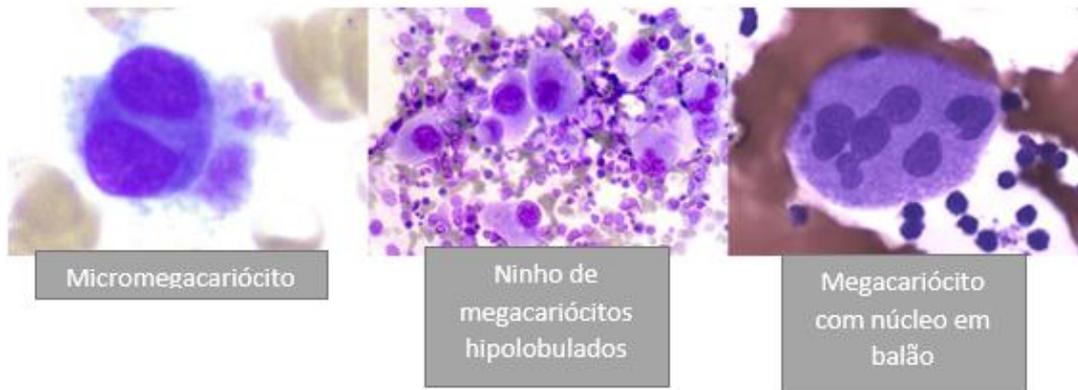


Figura 09. Dismegacariopoiense.

5.6 PARASITAS INTRAMEDULARES

Os principais parasitas encontrados na medula óssea em nosso meio são *Leishmania* sp. e *Histoplasma* sp. Mais raramente, micobactérias podem ser identificadas como imagens negativas à microscopia óptica com corante hematológico derivado do Romanowsky, podendo, entretanto, ter sua confirmação após coloração pelo Ziehl-Neelsen^{24,25}.

Os amastigotas de *Leishmania*, encontrados em aspirados de medula óssea, possuem características morfológicas distintas que auxiliam no diagnóstico. Apresentam-se como formas arredondadas ou ovais, medem geralmente entre 2 e 5 micrômetros de diâmetro e, diferentemente dos promastigotas (formas flageladas presentes no vetor flebotomíneo), não apresentam flagelos externos. São frequentemente observados no interior de macrófagos. Eles possuem um núcleo central e um cinetoplasto, uma estrutura mitocondrial rica em DNA localizada próxima ao núcleo, cuja organização é um aspecto essencial para sua identificação em análises histológicas ou citológicas²⁴.

A sensibilidade da aspiração de medula óssea para diagnosticar histoplasmose disseminada varia conforme o método empregado e a população analisada. Conforme descrito na literatura médica, a identificação histopatológica de leveduras típicas em amostras de medula óssea pode ser realizada rapidamente e, quando detectada, sugere fortemente uma infecção ativa. Entretanto, a positividade é observada em apenas 12% a 43% dos adultos com histoplasmose disseminada

progressiva. Estudos indicam que a biópsia de medula óssea, incluindo aspiração e exame histológico, frequentemente revela o envolvimento da medula com *Histoplasma capsulatum* em uma proporção considerável de casos. No entanto, a sensibilidade específica da aspiração isolada não é claramente definida²⁵.

Dessa forma, embora a aspiração de medula óssea seja uma ferramenta útil no diagnóstico da histoplasmose disseminada, sua sensibilidade pode ser limitada. Por isso, frequentemente é necessário complementar esse exame com outros métodos diagnósticos, como cultura, detecção de antígenos e técnicas moleculares, para aumentar a precisão e a confiabilidade do diagnóstico. A figura 10 retrata a morfologia típica da forma amastigota de *Leishmania* sp. e *Histoplasma* sp. no aspirado de medula óssea²⁴⁻²⁵.

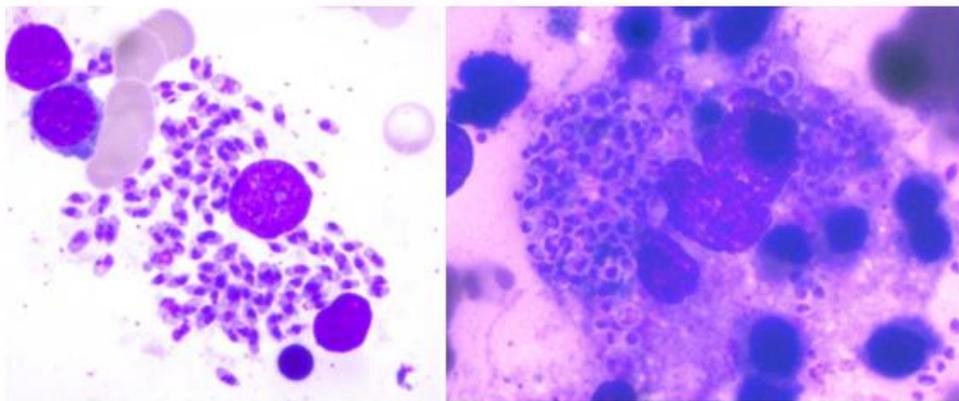


Figura 10. Forma amastigota de *Leishmania* sp (esquerda) e *Histoplasma* sp (direita).

6. LAUDO DO MIELOGRAMA

O laudo do mielograma deve começar pela adequada identificação do paciente e das condições técnicas relativas ao procedimento, como localização, resistência óssea e contaminação por sangue periférico. Conforme dito anteriormente, o aspirado de medula óssea deve ser interpretado, dentre outros fatores, à luz de um hemograma coletado próximo à data da coleta do estudo medular. Em seguida, as células nucleadas são contadas e divididas com base nas linhagens celulares, bem como seus respectivos estágios maturativos, para uma adequada caracterização da composição e proporção dos distintos elementos

celulares. Após a análise quantitativa, deve ser relatada qualquer anormalidade qualitativa evidente à microscopia óptica, destacando ou não, em caso de sinais de displasia. Células anômalas, atípicas, não hematológicas e parasitas intramedulares também devem ser relatados^{1,9}. A figura 11 resume as principais variáveis que devem ser destacadas para a leitura e interpretação do mielograma.

NOME:		D.N.:	
MÉDICO SOLICITANTE:			
DATA COLETA:			
DADOS CLÍNICOS:			
Hb:	VCM:	Leucócitos:	Blastos:
Linfos:	Eos:	Mono:	Outros:
		Neutros:	
		Plaquetas:	
LOCAL DE PUNÇÃO:			
CONDIÇÕES DE PUNÇÃO:			
RESISTÊNCIA ÓSSEA:			
CONTAMINAÇÃO COM SANGUE:			
CELULARIDADE:			
RELAÇÃO G / E:			
Células Indiferenciadas:			
Macrófagos:			
Mitoses:	SG:	SE:	
SÉRIE GRANULOCÍTICA:			
Mieloblastos:	EOSINÓFILOS:		BASÓFILOS:
Pró-Mielócitos:			
Mielócitos:	Mielócitos:	Mielócitos:	
Metamielócitos:	Metamielócitos:	Metamielócitos:	
Bastonetes:	Bastonetes:	Bastonetes:	
Segmentados:	Segmentados:	Segmentados:	
SÉRIE MONOCÍTICA:			
Monoblastos:	Pró-Monócitos:	Monócitos:	
SÉRIE ERITROCÍTICA:			
Pró Eritroblastos:	Eritroblastos Basófilos:		
Eritroblastos Policromáticos:	Eritroblastos Ortocromáticos:		
SÉRIE LINFOPLASMOCÍTICA:			
Linfócitos:	Plasmócitos:		
SÉRIE MEGACARIOCÍTICA:			
OBSERVAÇÕES:			
COMENTÁRIOS:			
MÉDICO:		MÉDICO RESIDENTE:	
Data:			

Figura 11. Modelo de laudo de mielograma

7. ANEXO

Protocolo de coleta de mielograma e biópsia de medula óssea

Na maioria dos cenários clínicos o exame da medula óssea, através da obtenção dos espécimes de aspirado (mielograma) e da biópsia óssea, são fundamentais para a avaliação do órgão; fornece dados semiquantitativos e qualitativos do estado de hematopoese e da normalidade das células sanguíneas precursoras de todas as linhagens, sendo amplamente utilizados para diagnóstico e monitoramento de doenças hematológicas, doenças de armazenamento, infecciosas e neoplásicas. Tais técnicas foram desenvolvidas no início do século XIX, permitindo aos médicos o diagnóstico de distúrbios medulares. Evoluiu nos anos seguintes com foco na coleta mais fácil e passível de repetição, levando à padronização completa na década de 1970.

A correta indicação e realização desse recurso diagnóstico, assegura excelência na execução das técnicas, a qualidade, a segurança e a integridade das amostras, evitando artefatos e possibilitando a representatividade celular necessária à análise citológica do mielograma e histopatológica / imuno-histoquímica da biópsia, elementos fundamentais para os estudos requeridos. Propicia informações complementares entre si na investigação e análise de distúrbios hematológicos, podem ser realizados em ambientes hospitalar e/ou ambulatorial, e ambos os espécimes podem ser obtidos rotineiramente durante a mesma intervenção na prática clínica. São considerados fáceis, rápidos, econômicos, além de baixa morbidade. O perfil de segurança e o alto rendimento diagnóstico do mielograma e biópsia óssea foram estabelecidos na literatura e tornam esta intervenção, quando bem indicada e executada, um componente basilar da condução e gerenciamento de pacientes na prática médica contemporânea.

O espécime do aspirado é líquido / semilíquido, é utilizado pós coloração específica para exame citológico, útil para a caracterização da morfologia individual das células, suas contagens diferenciais e maturação das mesmas na MO; além disso é matriz de extração para estudos e análises citogenética (cromossômica), diagnóstico molecular por reação em cadeia da polimerase (PCR), sequenciamentos gênicos, avaliação de citometria de fluxo, culturas etc.

A biópsia se constitui o padrão ouro na avaliação da celularidade, para identificação de características histológicas como padrões arquitetônicos, caracterização precisa dos elementos hematopoiéticos, como número de megacariócitos, classificação de fibrose, detecção de infiltração da medula por tumor, extensão e padrão da infiltração, incluindo malignidades hematopoiéticas e doenças metastáticas, infecções, infiltração granulomatosa ou metabólica. De modo geral, é uma combinação das informações e pistas coletadas através da integração destes exames e de suas várias e diversas preparações, que leva a uma correta formulação diagnóstica.

A figura 12 ilustra os componentes da medula óssea normal.

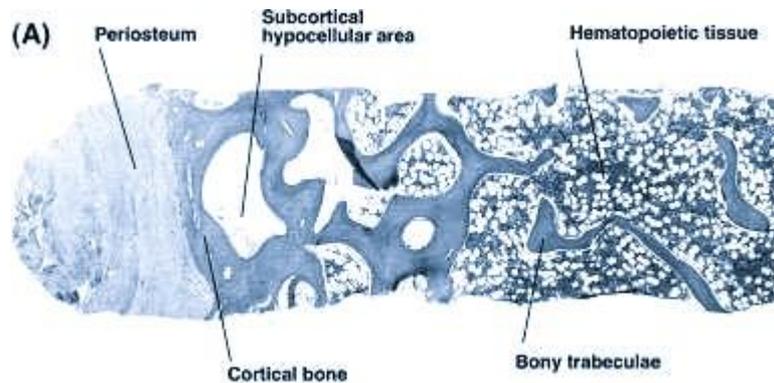


Figura 12.

Indicações

- Citopenias de origem desconhecida.
- Reação leucoeritroblástica em sangue com suspeita de infiltração medular.
- Suspeita de leucemias agudas.
- Avaliação de remissão de leucemias agudas em tratamento.
- Avaliação de casos suspeitos de recidiva de leucemias agudas.
- Suspeita de síndromes mielodisplásicas (pancitopenia, alterações displásicas em neutrófilos no sangue, macrocitoses com reticulócitos diminuídos, macro-ovalócitos no sangue, excluindo-se casos de anemia megaloblástica e quimioterapias etc.)
- Suspeita de neoplasias mielodisplásicas /mieloproliferativas (hemogramas com leucocitose associada a displasias).
- Suspeita de neoplasias mieloproliferativas crônicas (leucemia mieloide crônica, policitemia vera, trombocitemia essencial, mielofibrose com metaplasia mieloide e mastocitoses sistêmicas)
- Diagnóstico de doenças infiltrativas da medula óssea;
- Investigação de doenças infecciosas e armazenamento de ferro.
- Suspeita de neoplasias linfoproliferativas crônicas (leucemias linfoides crônicas primárias e linfomas não Hodgkin em fase leucêmica)
- Estadiamento de linfomas não Hodgkin.
- Estadiamento de tumores com potencial infiltração de medula óssea (metástase em medula).
- Suspeita de mieloma múltiplo, POEMS, Amiloidose primária ou outras discrasias de plasmócitos.
- Suspeita de doenças de depósito
- Esplenomegalia, hepatoesplenomegalia
- Febre de origem desconhecida

- Lesão da medula (radioterapia, medicamentos, produtos químicos e agentes mielotóxicos)
- Doença dos mastócitos
- Doença de armazenamento lisossomal
- Doença óssea metabólica
- Doença granulomatosa disseminada

A decisão de realizar uma avaliação da medula óssea deve ser tomada após a avaliação crítica das informações pertinentes disponíveis no histórico, exames físicos e laboratoriais, incluindo uma revisão do hemograma completo e exame especializado do esfregaço de sangue periférico.

O conhecimento médico pré-procedimento do paciente fundamenta uma intervenção bem-sucedida. A avaliação pré-procedimento normalmente inclui:

- Revisão da indicação clínica;
- Diagnóstico primário (se houver);
- Tratamento recente incluindo quimioterapia, transplante de medula óssea, radioterapia se realizada, constar a informação dos campos irradiados (ex. bacia no caso de biópsia);
- Medicamentos ativos e que podem influenciar na contagem sanguínea, na citologia, como drogas que tem um efeito adverso sobre a medula óssea ou citocinas e fatores de crescimento que são prescritas para estimular a hematopoese;
- Perfil de coagulação;
- Alergias;
- Informações sobre o estado físico do paciente,
- Histórico médico incluindo doença cardiopulmonar, distúrbios hemorrágicos, cirurgia pélvica recente, tolerância à dor diminuída, capacidade de consentimento, hábito corporal e limitações potenciais de posicionamento.
- Criteriosa avaliação da indicação de solicitações específicas (análises citogenéticas e imunofenotípicas, moleculares, culturas);

Contraindicações

- Coagulopatia grave sem correção prévia (ex. hemofílicos graves).
- Infecção ativa nos locais da punção;
- Instabilidade hemodinâmica do paciente.

A trombocitopenia, independente da gravidade, não se constitui uma contra indicação. Entretanto, a depender das circunstâncias, reposição de plaquetas imediatamente pré procedimento de biópsia óssea pode ser considerada pela Equipe Assistente, para manter nível > 20 mil / mm³. Trombopatias hereditárias, apesar de raras, devem ser consideradas antes da realização.

A maioria dos serviços não considera a anticoagulação terapêutica um fator de risco importante, embora variações na prática sejam descritas. Há pouca informação sobre sangramento em pacientes em uso de um ou mais antiagregantes plaquetários. É necessário determinar e contrapor os riscos trombótico x

hemorrágico mediante suspensão destes agentes antes da biópsia, para decisão conjunta.

Responsáveis:

As biópsia e aspiração da medula óssea devem ser realizadas em ambiente adequadamente estabelecido, hospital ou clínica ambulatorial, por profissional médico hematologista treinado.

- **Médico hematologista ou especialista treinado:** responsável pela execução do procedimento e interpretação dos resultados.
- **Enfermeiro:** auxilia na preparação do paciente, na organização dos materiais e na monitorização pós-procedimento.
- **Técnico de laboratório:** responsável pelo preparo e processamento das amostras coletadas para posterior análise.

Materiais / Insumos

- Campo cirúrgico + campo fenestrado + compressa estéril (de preferência individual).
- Pacotes de gazes estéreis
- Agulhas (40x12/ 30x8 ou 30x7 / agulha para SC, 10x5 ou similar)
- Seringas (20ml e 10ml).
- Lidocaína 2% sem epinefrina, mínimo de 20 mL (salvo contra-indicação)
- Em caso de biópsia: dipirona 1.000mg bolus EV (salvo contra-indicação)
- Em caso de biópsia: morfina 2-4mg, EV – administração lenta e titulada conforme necessidade, diluída em 10 ml de NaCl 0.9% (salvo contra-indicação).
- Naloxone (para uso em caso de intoxicação opioide (0,4-2mg – EV ou IM).
- Epinefrina (para uso em caso de reação anafilática – 0.5mg IM em adultos).
- Lâminas* para confecção dos esfregaços
- Recipiente estéril com formol tamponado a 10%(30-50mL) para estocagem de amostra de biópsia.
- Tubos de EDTA (em caso de envio para imunofenotipagem ou PCR / biologia molecular).
- Heparina não fracionada, frasco ampola, 1000UI / mL (em caso de envio de material para citogenética).
- Micropore / Esparadrapo
- Clorexidina alcoólica - 0.5%.
- Clorexidina degermante - 2%.
- Alcool 70%

**Lâminas de vidro, que devem estar novas, limpas e secas, com borda lapidada e uma das extremidades fosca, para permitir a identificação com lápis grafite seco (HB). (Caso necessite, limpar as lâminas, use gaze limpa e seca). Lâminas envelhecidas, reutilizadas, contaminadas por fungos ou não completamente secas, com resíduos de qualquer substância comprometem a coloração, comumente inviabilizando a morfologia adequada.*

Material Especial:

- 01 Agulha de aspiração de medula óssea*
- 01 Agulha de biópsia de medula óssea (tipo Jamshidi)*.

Seleção de agulha: o uso de agulhas para aspiração e biópsia, descartáveis e com materiais regulamentados e de qualidade comprovada é essencial para garantir a segurança, esterilidade e o sucesso do procedimento, bem como para reduzir a dor relacionada, e as taxas de "falha". Todas as agulhas disponíveis comercialmente, se de acordo com os órgãos nacionais de avaliação e liberação, são aceitáveis para aspiração e biópsia da crista ilíaca. Devem ser selecionadas de acordo com a estrutura física do paciente. É imperativo que o serviço disponha de agulhas de mielograma de 14 ou 15G, de comprimentos variáveis (desde 20 a 100mm). As agulhas para aspirado em esterno devem ser 15 ou 16G e comprimento máximo de 30mm, e obrigatoriamente dispor da proteção que seja parafusada firmemente a uma parte selecionada da agulha para limitar sua penetração.

A agulha de biópsia pode ser de 11, 09 ou 08G e de comprimento 100mm, se para paciente com IMC baixo ou normal. Porém para paciente obeso, com IMC acima de 35 ou com crista ilíaca profunda, é imperativo que seja de comprimento longo (até 150mm).

Observação: é fortemente recomendado que o hemograma completo com diferencial e o esfregaço sanguíneo sejam obtidos no mesmo dia da coleta da medula óssea, para estudo paralelo especializado, permitindo a identificação de células específicas e correlação estreita com os achados da MO.

Locais de aspiração/biópsia

- **Crista ilíaca posterior (preferencial) ou anterior:** a crista ilíaca é o único local em que tanto a aspiração quanto a biópsia podem ser realizadas com segurança no adulto, sendo o local preferencial para esta intervenção devido à segurança, conforto e conveniência. A crista antero-superior é escolha menos frequente, devido ao aumento da dor e dificuldade na coleta das amostras podendo, entretanto, ser alternativa para crianças e adultos obesos (o excesso de tecido adiposo pode dificultar a identificação dos pontos de referência, ou a agulha disponível não atingir o alvo. No caso de localização adequada dos pontos anatômicos, utilizar agulha mais comprida, impossibilidade de posicionamento do paciente para CIP, doenças de pele ou radiação anterior (áreas previamente irradiadas geram resultados insuficiente).

- **Esterno:** a medula pode ser aspirada do esterno por médicos experientes, mas a biópsia neste local é contraindicada e nunca deve ser tentada em nenhum paciente, devido a proximidade com coração e grandes vasos. A opção pelo aspirado no esterno pode ser útil em condições especiais, como em pacientes que receberam irradiação na região pélvica ou em pacientes extremamente obesos. Sua aplicação é variável entre serviços, em alguns sendo o sítio primário para aspiração, quando não há necessidade de BMO adicional, enquanto outros centros o elegem apenas como último recurso em pacientes que, por razões médicas, não podem ser manipulados de outra forma. Os benefícios da aspiração esternal são cotejados em relação aos riscos associados à entrada accidental no mediastino subjacente, ou à causa de um episódio fatal de tamponamento cardíaco. Casos de hemorragia foram relatados, com frequência muito rara.
- **Outros locais:** em casos especiais, a medula óssea pode ser obtida do trocanter maior do fêmur, tibia, corpos vertebrais individuais ou costelas. Tais abordagens, incluindo biópsias ósseas abertas exigem orientação por tomografia computadorizada (TC) e consulta cirúrgica.

Observação: em bebês menores de 1 ano, a tibia é local de eleição. O procedimento é feito sob anestesia geral. Em condições patológicas específicas, como pacientes com plasmocitoma, osteoporose, devido à maior fragilidade ou também maior destruição óssea, como nas metástases ou talassemias maiores, está instituído cuidados adicionais, independente do sítio abordado.

Biópsia de medula óssea: o exame da medula óssea pode ser obtido por uma biópsia incisional em vários locais ósseos diferentes. Um sítio assertivo é geralmente determinado por exame prévio do paciente ou pelo método radiológico apropriado (Tomografia Computadorizada, Ressonância Magnética). Na investigação de uma suspeita diagnóstica de possível câncer metastático ou mieloma múltiplo, é importante escolher uma área onde haja evidências clínicas ou radiológicas de potencial invasão da medula óssea. Tais abordagens diretas podem ser realizadas sob orientação de TC, conforme necessário. A medula óssea também pode ser obtida no momento de um procedimento cirúrgico relacionado (por exemplo, ressecção de um linfonodo profundo, esplenectomia). Por outro lado, é conveniente que na instituição hospitalar, os radiologistas estejam familiarizados com as implicações clínicas deste tipo de biópsia, para o atendimento ao paciente e ser capazes de implementar o arsenal técnico disponível para alcançar uma intervenção segura, promovendo ao mesmo tempo a eficácia do procedimento.

Complicações:

Apesar de considerado seguro e com riscos mínimos, com rara frequência, o procedimento é associado a ferimentos graves. Complicações após aspiração / biópsia de medula óssea são incomuns (estimadas em 0,05 a 0,07 % em duas séries).

Casos de lesão neurovascular, formação de fístula arteriovenosa, hemorragia pós-procedimento, raros relatos de hemorragia retroperitoneal, laceração da artéria glútea ou pseudoaneurisma com síndrome do compartimento glúteo e pseudoaneurisma da artéria ilíaca interna, estão relatados na literatura. Estes eventos adversos têm sido atribuídos à penetração da agulha através do córtex interno do osso ilíaco.

- **Dor/ desconforto local:** comuns e podem ser aliviados com analgésicos.

As informações sobre a dor associada aos referidos procedimentos são muito limitadas, e nenhuma orientação eficaz para a técnica em si foi desenvolvida até o momento, **entretanto a dor continua sendo um fardo pesado para muitos pacientes hematológicos.**

Manejo Farmacológico: além do uso do anestésico local, a sedação intravenosa com medicamentos específicos, reduz a ansiedade e a percepção da dor; sedativos demonstram ser capazes também de produzir uma amnésia retrógrada para o procedimento em muitos pacientes. Como o anestésico local não previne a dor transitória experimentada durante a sucção, a pré-medicação com um analgésico opioide de ação central, como o tramadol, pode ser usada para reduzir significativamente a intensidade da dor, indicando que a dor provocada pela aspiração a vácuo da medula óssea é responsiva aos opioides. Em comparação com outros opioides, esta substância não tem os efeitos indesejados no sistema cardiovascular e respiratório e, portanto, é melhor tolerado.

Manejo não farmacológico: um dos fatores importantes que influenciam a dor durante a biópsia é a ansiedade dos pacientes antes do procedimento. Estabelecer uma relação de confiança, fornecendo informações precisas em termos que o paciente possa entender e garantindo conforto e privacidade pode diminuir a ansiedade dos pacientes antes do procedimento.

Outra abordagem é o uso de diferentes tipos de dispositivos de biópsia. O desenvolvimento de novos equipamentos, como agulhas de biópsia com dispositivo de captura do fragmento, reduz o desconforto experimentado pelo paciente

- **Sangramentos:** curativos de pressão devem ser aplicados no local após o procedimento em pacientes com trombocitopenia, com compressão local prolongada e crioterapia (compressas de gelo), especialmente nas primeiras horas; se o sangramento persistir, transfusão de plaquetas pode ser recomendada se o paciente for gravemente trombocitopênico ou se a função plaquetária estiver comprometida.
- **Infecção:** há sempre um risco potencial de contaminação local seguida de infecção. Precauções universais devem ser aplicadas em todos os casos. Geralmente são menores, minimizada com assepsia adequada; monitoramento de sinais locais, exigindo apenas medicamentos tópicos. Infecções mais sérias podem ocorrer em pacientes imunocomprometidos.

- **Quebra de agulha:** descrita como evento raro, mas uma agulha pode quebrar. Neste caso a tentativa de extrair o segmento distal com uma pinça hemostática deve ser feita. Se essa manobra não for bem-sucedida, um cirurgião deve ser convocado.
- **Alterações radiológicas locais:** podem ocorrer estudos radiológicos anormais da pelve após a biópsia, incluindo lesões líticas circundadas por uma borda esclerótica exostoses, aumento da captação de isótopos ósseos ou exames PET falso-positivos na região do procedimento de biópsia.
- **Outros:** não raramente os pacientes referem desconforto persistente no local da biópsia. Complicações extremamente raras incluem neuropatia transitória com síndrome do compartimento glúteo secundária a sangramento pós-biópsia, fratura devido à osteoporose subjacente e/ou osteomielite.
- **Punção inadequada:** pode levar à necessidade de repetição do procedimento para obtenção de amostra adequada.

Fatores de risco para um evento com complicação incluem:

- Distúrbios mieloproliferativos
- Tratamento com antiagregação
- Obesidade
- Distúrbios de coagulação.
- Idade avançada
- Uso de esteroides.

Em geral, no entanto, quando ocorrem complicações, elas tendem a ser menores, consistindo principalmente em sangramento ou infecção no local da biópsia/aspiração.

Preparação do Paciente

- Explicar detalhadamente o processo das coletas ao paciente, esclarecendo benefícios, riscos e possíveis desconfortos.
- Obter o consentimento informado, garantindo que o paciente compreenda e aceite a realização do exame.
- Posicionar o paciente de acordo com o local da coleta:

Observação: em relação a sequência de execução, espécimes de alta qualidade podem ser obtidas independentemente da ordem de realização, desde que sejam utilizadas agulhas adequadas e locais separados (com um a dois centímetros de distância ao longo da crista ilíaca) para cada procedimento.

Procedimento em crista íliaca posterior

Crista íliaca posterior:

- Posição de coluna reta, em decúbito lateral, os joelhos dobrados e fletidos sobre as coxas, puxados para mais perto do peito, contribuem para identificar os pontos de referência.
- Examinar o local, pele no entorno, evidências de infecção; palpar a crista íliaca posterior, a espinha íliaca póstero-superior e a espinha íliaca ântero superior.
- O local mais usual para aspiração e biópsia é aproximadamente três dedos de largura da linha média e dois dedos de largura inferior à crista íliaca. Marque a área escolhida.
- Realize antissepsia rigorosa de toda área, local e circundante, com clorexidina alcoólica 2% ou povidona iodada, aplicando em movimentos circulares do centro para a periferia e aguardando secagem, cubra com campo estéril. Prepare os instrumentos.
- Coloque as lâminas de vidro em um local conveniente antes do procedimento para permitir acesso rápido e fácil.
- Anestesiá-la pele e os tecidos subcutâneos com uma solução de lidocaína de 1 a 2%, sem vasoconstrictor, usando uma agulha fina para infiltração, garantindo uma abordagem gradual para minimizar o desconforto.
- A seguir, anestesiá-la periósteo injetando repetidamente pequenas quantidades de solução de lidocaína em diferentes pontos da superfície do osso com uma agulha longa, de calibre 21.
- É útil anestesiá-la uma área do periósteo do tamanho de uma moeda de dez centavos ao redor do local alvo, considerando que **a aspiração e a biópsia devem ser feitas em locais adjacentes, mas ligeiramente diferentes.** - Utilizar agulha de aspirado medular previamente escolhida, e introduzi-la perpendicularmente ao osso.
- No ponto de entrada, o paciente pode expressar queixa de uma dor profunda. É importante alertar o paciente sobre essa possibilidade com antecedência. Continue a avançar a agulha ligeiramente para garantir que ela esteja ancorada e firme na estrutura óssea.
- Uma vez fixada, avançar a agulha com movimentos rotatórios firmes, porém leves, e com pressão controlada, até alcançar a cavidade medular. **(geralmente uma "elasticidade", "mudança da resistência" é sentida quando a agulha entra na cavidade medular)**.
- Remova o mandril obturador, conecte uma seringa de 20 mL (de ponta / bisel) à agulha de aspiração e novamente avise o paciente que a aspiração pode causar um breve período de dor.
- Aspire rapidamente com baixa pressão, 0,2 a 0,5 mL do conteúdo da medula com a seringa acoplada, **evitando diluição excessiva com sangue periférico.** A aspiração de mais de 0,5 mL por seringa, pode provocar diluição ou coagulação da amostra.
- Remover a seringa e se possível, entregar a amostra obtida para confecção das lâminas, onde a amostra de MO é distendida para posterior análise morfológica dos esfregaços corados.
- Caso o executante necessite preparar os esfregaços, **recolocar de pronto o mandril, enquanto os prepara e estende.**

- Realizar esfregaços finos e homogêneos. (os movimentos necessitam ser rápidos e precisos para que o sangue da MO não coagule);
 - Avaliar a qualidade da amostra (presença ou ausência de espículas ósseas macroscopicamente visíveis)
(em caso de impossibilidade de realização imediata dos esfregaços, a amostra deve ser colocada em um tubo com anticoagulante EDTA para posterior preparação do mesmo).
 - Imediatamente colocar outra seringa. Aspirar sempre com seringa nova e estéril, utilizando unidade individual para cada exame, em etapas, amostras adicionais se houver.
 - Em casos de múltiplas amostras, se necessário, reintroduzir o mandril nos intervalos e avaliar a necessidade de reposicionamento em ponto adjacente, levemente lateralizando no alvo inicial da coleta, sem retirar a agulha da pele, e sempre distendendo um esfregaço como preditor da qualidade do material extraído.
 - Se as tentativas de aspiração não forem bem-sucedidas, reinsira o estilete (a agulha pode ser girada) e avance a agulha uma curta distância; repita as tentativas de aspiração com a seringa e sucção. Se várias tentativas de aspiração não forem bem-sucedidas, um local alternativo (por exemplo, a outra crista ilíaca posterior) pode ser abordado com a mesma estratégia estéril após a biópsia da medula óssea ter sido obtida.
- Depois de determinar que o aspirado é satisfatório, remova a agulha usando um movimento de torção semelhante e aplique pressão no local com um pequeno pedaço de gaze até que o sangramento pare e coloque um curativo de pressão.

A figura 13 ilustra o posicionamento para punção na crista ilíaca posterior



Figura 13.

Punção seca: uma "punção seca" é definida por uma situação na qual nenhuma amostra de medula óssea é obtida por aspiração (ou seja, não há espículas ósseas identificáveis no espécime), apesar do sangue de medula facilmente obtido. **Uma técnica defeituosa pode ser a causa**, pois a ponta da agulha de aspiração pode não ter penetrado na cavidade da medula.

Mais frequentemente, uma punção seca é devida a alterações na medula associadas a distúrbios mieloproliferativos ou leucêmicos. Tais alterações na medula geralmente envolvem um elemento de fibrose, infiltração tumoral metastática ou formação de granuloma. Em tais casos, a biópsia da medula óssea é indispensável e deve sempre ser realizada. Preparações "de toque" da biópsia (Imprint) podem

ser feitas, o que pode fornecer material celular para avaliação diagnóstica na citologia.

Observação:

- Um aspirado de medula satisfatório, distendido apropriadamente em lâmina específica deve ter tanto partículas ósseas (grumos), quanto a região mais delicada (cauda), e ambos são essenciais para avaliação da celularidade total, dos megacariócitos, visualização de células não hematopoiéticas e contagem diferencial das células nucleadas do parênquima medular. Coletas demoradas com aspirações prolongadas são mais suscetíveis à diluição com sangue periférico, o que muitas vezes inviabiliza o laudo, gerando amostra não representativa, e requerendo nova coleta.

- Cada profissional deverá avaliar com os critérios devidos os aspectos aparentes das amostras, realizando sempre que possível os reposicionamentos, se indicados, considerando que amostras diluídas geram resultados pouco assertivos, e evitando a necessidade da repetição do procedimento em data posterior, prevenindo retardar diagnósticos que necessitam de resultados de curto prazo.

Esterno

Paciente em posição supina. Deitado de costas, com o abdômen para cima; braços e mãos alongados junto ao corpo, lateralmente. Esse posicionamento é utilizado, facilitando o acesso ao osso e garantindo estabilidade durante a operação.

- Selecione um nível do esterno no segundo ou terceiro espaço intercostal. Após rigorosa assepsia da região, proceder a infiltração do anestésico local com agulha 10 x 5, subcutâneo (lidocaína 1 ou 2% sem vasoconstrictor).

- Solicitar ao paciente a rotação lateral total exclusivamente do pescoço e manter os olhos fechados, respirando normalmente. Conscientizar ao paciente sobre a necessidade de manter-se imóvel.

- Certifique-se de que a agulha de aspiração funcione corretamente e que a proteção esteja firmemente posicionada. A proteção deve ser ajustada **de modo que apenas 5 mm de avanço da agulha seja possível além do periósteo.**

- A aspiração deve ser tentada apenas da primeira parte do corpo do esterno ou do manúbrio. Insira a agulha ligeiramente para um lado da linha média, a 90 graus da superfície do osso, pois a medula óssea tende a ser menos celular na linha média.

- O restante da técnica de aspiração esternal é semelhante à usada para a crista ilíaca.

A figura 14 ilustra a topografia da punção esternal

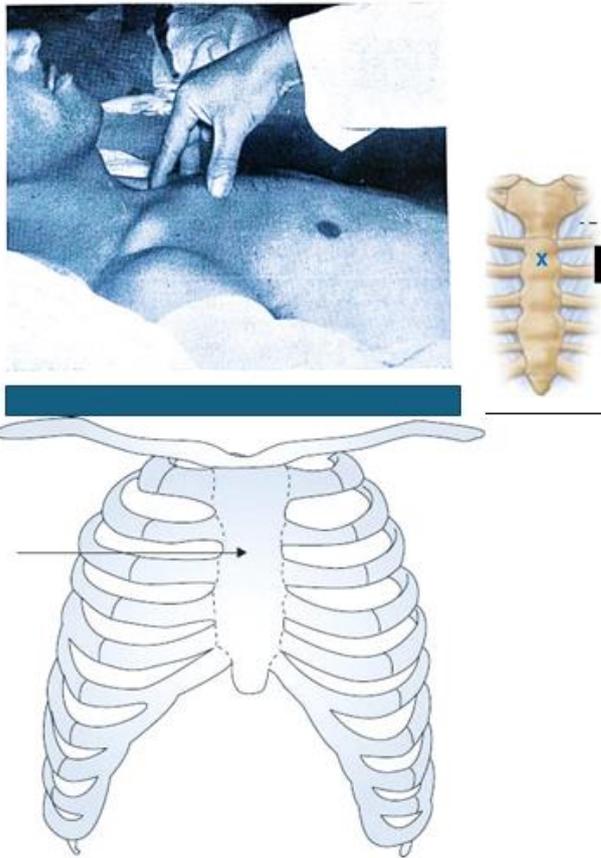


Figura 14.

Aspiração tibial:

A aspiração tibial deve ser realizada apenas em crianças menores de 12 a 18 meses de idade.

- O local da aspiração deve ser no terço superior do osso e ligeiramente medial à crista anterior, a partir da área triangular plana na extremidade proximal da superfície medial da tibia, logo abaixo do tubérculo tibial
- Angule a agulha póstero-lateralmente. Uma vez que a agulha esteja presa no osso, a aspiração deve ser tentada, uma vez que a "elasticidade" tipicamente sentida na aspiração da medula da crista ilíaca é caracteristicamente ausente neste local.
- Remova o estilete. Conecte uma seringa de 10 mL e puxe o cilindro para trás com alguma força para aspirar material suficiente da cavidade da medula.

A figura 15 ilustra o local da aspiração tibial.

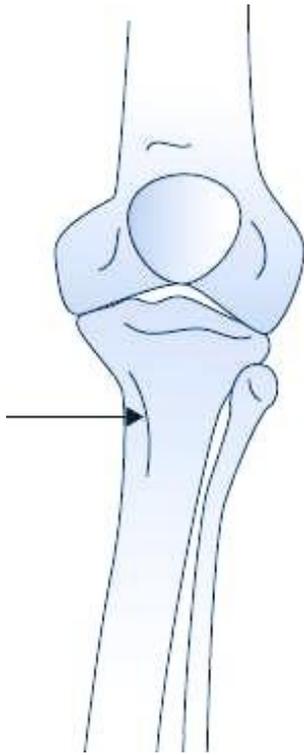


Figura 15.

Amostras do aspirado de medula óssea:

Citomorfológico: esfregaços corados com Wright-Giemsa ou MayGrunwald-Giemsa ou mesmo o Eosina segundo Wright . Manter em temperatura ambiente, local seco e fresco. Armazenar somente após esfregaços completamente secos. Não expor a temperaturas de refrigeração ou calor. A coloração deve ser realizada no mesmo período das 24h.

Citogenética / Cariótipo: 4 ml de amostra de MO em seringa heparinizado. (semelhante à coleta para hemogasometria)

- A quantidade de heparina não deve ultrapassar 100 microlitros (0.1 mL) Aspirar 0,5 mL de heparina frasco ampola 5000UI / mL e movimentar o êmbolo da seringa para que o anticoagulante seja pulverizado ao longo das paredes que vão entrar em contacto com a amostra. Homogeneizar com movimentos lentos pelo menos 30 segundos. **NÃO AGITAR.**

A amostra pode ser colocada em meio RPMI ou solução apropriada, fornecida pelo laboratório executor. Caso não disponha do referido meio, enviar a amostra de MO na própria seringa heparinizada em que foi coletada evitando ao máximo a manipulação da mesma e conseqüente perda da viabilidade celular. O transporte é obrigatório em ambiente refrigerado, 4°C, (isopor com *gelox*) SENDO PROIBITIVO o contato direto com o gelo (perda da viabilidade celular, sem crescimento, sem divisão celular).

- Se indicado, pode ser solicitado previamente, ao enviar a amostra, a guarda do material do cariótipo, para estudo da(s) mutação(ões) específica(s) por sonda neste método, caso após o resultado o cariótipo não seja suficiente para conduta.

FISH: Coleta semelhante ao Cariótipo, em seringa heparinizada, inclusive quantitativamente. Após homogeneização, manter a amostra na própria seringa, manter e enviar ao laboratório em ambiente / isopor refrigerado com gelo.

Citometria de Fluxo / Imunofenotipagem: (Usar preferencialmente 2 tubos virgens de tampa roxa, o mesmo de hemograma, com anticoagulante EDTA)

- Coletar 2 mL de MO e imediatamente colocando o sangue pelas paredes do tubo (identificar TUBO 1- mais concentrado) Homogeneizar 30seg ou 20 vezes, com movimentos lentos de inversão. NÃO AGITAR.

- Se possível, aspirar mais 2 mL e colocar no 2º tubo derramando pelas paredes do tubo (identificar TUBO 2 – mais diluído). Homogeneizar 30” ou 20 vezes em inversão, com movimentos lentos. NÃO AGITAR.

Este procedimento visa a obtenção de amostra mais concentrada no tubo 1 e a utilização do tubo 2 para estudos de marcações complementares, entretanto no caso de outros exames, sugerimos colher 3 mL em um único tubo de anticoagulante.

- Em situações de falta de tubo de EDTA ou outra intercorrência, a amostra para citometria poderá ser coletada em seringa heparinizada, como soe na coleta de cariótipo ou FISH

Imunofenotipagem: Enviar junto com o espécime aspirado, 01 ou 02 esfregaços da MO coletada para citologia, componente de avaliação necessária ao setor de Imunofenotipagem, norteador do uso de painéis de anticorpos a ser utilizados. Transporte em isopor com gelox (isopor com gelox) sendo proibitivo o contacto direto com o gelo. (perda de viabilidade)

- **Biologia Molecular / NGS** : tubos estéreis de EDTA, respeitando a quantidade adequada de cada pesquisa e se possível, respeitando a relação anti coagulante sangue (indicada no tubo). Enviar nos próprios tubos de coleta, em ambiente refrigerado (isopor com gelox) sendo proibitivo o contacto direto com o gelo. (perda de viabilidade e comprometimento de resultados)

- **Culturas:** Solicitar previamente os meios específicos das culturas a ser realizadas ao laboratório. Colocar a quantidade determinada em cada tubo, sempre utilizando agulhas individuais para cada cultivo.

- **Pesquisa de Ferro Medular:** 02 esfregaços de sangue da MO, de preferência com espículas e sem corar. Esfregaços diluídos comprometem o resultado.e a semi quantificação da pesquisa.

- **Anatomopatológico:** colocar em formol a 10% tamponado manter à temperatura ambiente e entregar ao laboratório no mesmo turno, se possível.

Biópsia de medula óssea:

- Após as coletas de aspirações, proceder a retirada de todos os materiais contaminados, realizar a troca de luvas e realizar nova assepsia no local, e se necessário, potencializar a anestesia local, dentro da posologia segura para o paciente.
- Faça uma pequena incisão na pele (3 mm) com lâmina de bisturi no local de inserção da agulha de aspiração, a fim de facilitar sua entrada e promover a cicatrização organizada da ferida.
- Segure a agulha (com o mandril / obturador no lugar) perpendicular à pele, no ponto previamente marcado; avance a agulha girando-a para dentro do osso com movimentos suaves e **pressão controlada** até perfurar a cortical óssea.
- **Use a mesma incisão do mielograma, mas um local da cortical / periósteo ligeiramente diferente**, com um movimento de torção constante até que esteja firmemente fixada. Isso pode exigir uma quantidade maior de pressão do que a usada para a aspiração.
- Quando a agulha tiver sido avançada até o periósteo, remova o mandril; utilize o **estilete que acompanha a agulha, graduado a cada 0,5 cm, para medida do tamanho do fragmento a ser obtido**
- **Estabelecer o espaço a ser penetrado, começando por inserir o estilete muito delicadamente no espaço vazio da agulha; ao sentir o estilete graduado não progredir, na cortical / extremidade distal da agulha, definir o ponto inicial de medida do comprimento do fragmento.**
- Avance na penetração do periósteo e osso cortical, agulha apontada lateralmente na direção da espinha ilíaca ântero-superior no mesmo lado, com movimentos de rotação incompletos, firmes e cuidadosos, de no máximo 180°, sempre reavaliando a medida da profundidade da agulha através do estilete medidor, até o máximo de 2 cm (04 traços de 0,5cm), quando o fragmento deverá ser adequado para análise histopatológica.
- Não exceder os 2cm de comprimento para o fragmento, e atentar para não ultrapassar a cortical interna, que predispõe a ocorrência de complicações.
- Prosseguir com movimentos nos dois sentidos, horário e anti-horário, de rotações completos, de 360° sem aprofundar e apenas lateralmente, **para separar a amostra da biópsia do tecido medular circundante.**
- **Após esta etapa, a agulha deve ser avançada apenas uma distância muito curta antes da remoção. Esta etapa pode evitar que a amostra seja puxada para fora da agulha no local da biópsia.** Remova a agulha com leves movimentos de torção.
- Uma vez que a agulha de biópsia tenha sido removida, o espécime pode ser extraído da agulha, inserindo o obturador através da extremidade cortante da agulha.
- A biópsia de medula óssea pode então ser colocada sobre a lâmina, onde impressões da amostra ("**impressões de toque**") são feitas antes que o espécime central seja processado para investigações citológicas; **ou "rolando cuidadosamente" o fragmento, com ajuda de uma segunda lâmina auxiliar colocada levemente por cima, "empurrando o osso ao longo da superfície – (O Imprint que deve ser corado junto e à semelhança do esfregaço de aspiração).**
- Esta etapa é especialmente útil em situações em que um aspirado de medula óssea não pôde ser obtido ou que tenha sido diluído. No entanto, necessita ser

realizada com muita delicadeza e, caso o osso esteja frágil / friável ou amolecido, não realizar esta etapa para não comprometer a estrutura e o estudo da histologia.

- Examine macroscopicamente o espécime da biópsia. Se apresentar aparência de material branco e homogêneo (osso cortical) ou tecido brilhante (cartilagem), pode ser necessária uma segunda biópsia para aquisição de amostra mais satisfatória.

- **Isso deve ser feito com uma nova agulha de biópsia**, pois a agulha original pode ter sido danificada pelo processo de inserção do obturador ou estilete através da extremidade distal da agulha de biópsia.

- Transferir imediatamente o fragmento ósseo para um frasco contendo formol tamponado a 10% para preservação adequada.

- Coloque um curativo estéril, e faça aplicar pressão sobre o local por vários minutos. Antes de liberar o paciente, o local de aspiração/biópsia deve ser avaliado para sangramento prolongado que é minimizado com curativo compressivo e posição dorsal por no mínimo 10 min.

Recomendações importantes:

- Garantir a correta identificação das amostras com etiqueta contendo nome do paciente, data e local da punção.

- As amostras deverão ser mantidas em ambiente aberto e fresco até envio ao serviço de execução.

- As amostras devem ser transportadas ao laboratório executor o mais rápido possível e dentro do prazo estabelecido para garantir melhor qualidade na análise diagnóstica e evitar degradação.

- O médico solicitante necessita fornecer ao laboratório além da requisição do exame, enviar junto o laudo do último hemograma, um pequeno resumo da história do paciente, diagnóstico e/ou suspeita bem como os dados relevantes da evolução. Sempre relatar medicações recentes, condutas terapêuticas ou elementos que possam interferir nos resultados. É necessário saber se o paciente está recebendo ou recebeu alguma medicação que pode influenciar na contagem sanguínea e citologia da medula, como drogas que tem um efeito adverso sobre o órgão, a exemplo de fatores de crescimento que são prescritos para estimular a hematopoese.

- Esfregaços de mielograma devem estar completamente secos ao ar ambiente antes do envio ao laboratório. Nunca colocar em recipientes fechados antes de completamente secos.

- O aspirado para lâmina de citologia não pode ter nenhum contato próximo com heparina (especialmente), lidocaína, álcool, antissépticos ou outras substâncias, que destroem as estruturas celulares, inviabilizando a avaliação.

- Um aspirado de medula bem coletado distendido apropriadamente em lâmina específica (a mesma utilizada para se fazer o esfregaço no hemograma) deve ter, tanto partículas ósseas (grumos), quanto a região mais delicada (cauda), os quais são importantes para, respectivamente, avaliação da celularidade total e dos megacariócitos, e contagem diferencial das células nucleadas do parênquima medular.

- Fragmentos ósseos devem ser acondicionados em formol 10%, mantidos e transportados à temperatura ambiente até entrega ao serviço executante (preferencialmente logo após o término da coleta).

- Coletas demoradas com aspirações prolongadas são mais suscetíveis à diluição da medula com sangue periférico, ruptura das células, formação de "debris" que muitas

vezes inviabiliza o diagnóstico ou até mesmo o laudo, pois torna o material coletado não representativo da medula óssea. Na maioria das vezes, requerem a coleta de novo material.

- Caso necessário, acondicionar parte da amostra em tubos adequados para outros exames laboratoriais a serem acrescentados.

Instruções pós-procedimento:

- Aplicar curativo compressivo estéril sobre o local da punção para prevenir sangramentos.
- Após o procedimento, o paciente deve ficar deitado em decúbito dorsal, de modo a aplicar o peso corporal no local da biópsia, por pelo menos 10 a 15 minutos. Manter o paciente no serviço por no mínimo 30 min após a biópsia.
- Monitorar sinais vitais do paciente, incluindo pressão arterial, frequência - cardíaca e nível de consciência, garantindo estabilidade clínica.
- Para controle da dor, uma dose de analgésico por via oral é geralmente adequada. Se necessário, o paciente deve ser instruído a continuar a cada 06 horas, conforme necessário, pelo período subsequente de 24 a 48 horas.
- Caso o paciente apresente aumento de intensidade da dor, edema, sangramento persistente e/ou adicional, ou outros sintomas relacionados, orientá-lo a procurar assistência médica do serviço imediatamente.
- O paciente deve evitar esforço intenso (por exemplo, atividade ou exercício pesado) por pelo menos 24 horas, para evitar dor ou sangramento potencial no local do procedimento. A área da aspiração/biópsia deve ser mantida seca durante 48h para minimizar a chance de infecção ou sangramento.
- Registrar todas as informações do procedimento no prontuário do paciente, incluindo técnica utilizada, local de punção, volume aspirado e eventuais intercorrências.
- O local deve então ser inspecionado para garantir que não haja mais sangramento. O paciente deve ser avisado de que o local pode ficar levemente sensível por vários dias.
- Em caso de biópsia de medula óssea, o paciente deve ser orientado a evitar banhos de imersão pelo período de 15 dias (mar, piscina, rios, banheira, etc) para minimizar o risco de contaminação local.
- Entregar ao paciente orientações relativas aos cuidados com o local do curativo, retirando as dúvidas existentes.

Registros e Controle de Qualidade

- Documentação detalhada do procedimento no prontuário.
- Controle da integridade das amostras antes do envio.
- Rastreamento das amostras até o resultado final.

Considerações Finais

- O procedimento deve ser realizado em ambiente adequado, preferencialmente uma sala de pequenos procedimentos ou centro cirúrgico ambulatorial.
- O consentimento informado deve ser registrado antes da realização do exame.
- Garantir que todos os materiais estejam dentro do prazo de validade e em condições adequadas de uso.
- O treinamento contínuo da equipe envolvida é essencial para assegurar a observância da padronização do procedimento, a precisão na execução, a minimização de riscos, garantia da segurança do paciente e qualidade da amostra.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Oliveira, RA, Pereira J, Beitler B. Mielograma e imunofenotipagem por citometria de fluxo em hematologia: prática e interpretação – 1 ed. – Rio de Janeiro: Roca, 2016.
2. Askmyr M, Quach J, Purton LE. Effects of the bone marrow microenvironment on hematopoietic malignancy. *Bone*. 2011;48(1):115-20. doi:10.1016/j.bone.2010.06.003.
3. Lucas D. Structural organization of the bone marrow and its role in hematopoiesis. *Curr Opin Hematol*. 2021;28(1):36-42. doi:10.1097/MOH.0000000000000621.
4. Afkhami M, Vergara-Lluri M, Brynes RK, Siddiqi IN. Peripheral blood smears, bone marrow aspiration, trephine and clot biopsies: Methods and protocols. *Methods Mol Biol*. 2014;1180:257-69. doi:10.1007/978-1-4939-1050-2_14.
5. de Haas V, Ismaila N, Advani A, et al. Initial diagnostic work-up of acute leukemia: ASCO clinical practice guideline endorsement of the College of American Pathologists and American Society of Hematology guideline. *J Clin Oncol*. 2019;37(3):239-53. doi:10.1200/JCO.18.01468.
6. Magalhães SMM, Niero-Melo L, Chauffaille M de LLF, Velloso EDRP, et al. Guidelines on myelodysplastic syndromes: Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular. *Hematol, Transfus Cell Ther* [Internet]. 2018Jul;40(3):255–61. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.htct.2018.05.004>.
7. Della Porta MG, Travaglino E, Boveri E, et al. Minimal morphological criteria for defining bone marrow dysplasia: A basis for clinical implementation of WHO classification of myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2015;29(1):66-75. doi:10.1038/leu.2014.161.
8. Bain BJ. *Hematology: 101 morphology updates*. Hoboken, NJ: Wiley Blackwell, 2023.
9. Janinni P. *Interpretação clínica do mielograma*. 1ª edição. São Paulo; Gráfica S. José; 1959.

10. Florensa L, Arenillas L, Calvo X, et al. The importance of adequate recognition of normal and dysplastic myelopoiesis for the diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Histol Histopathol.* 2019;34(8):857-73. doi:10.14670/HH-18-093.
11. Bain BJ. *Células sanguíneas: um guia prático; [tradução: Renato Failace].* – 5. ed. – Porto Alegre : Artmed, 2016.
12. Hu J, Liu J, Xue F, et al. Isolation and functional characterization of human erythroblasts at distinct stages: Implications for understanding of normal and disordered erythropoiesis in vivo. *Blood.* 2013;121(16):3246-53. doi:10.1182/blood-2013-01-476390.
13. Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, et al. Dyserythropoiesis in the diagnosis of the myelodysplastic syndromes and other myeloid neoplasms: Problem areas. *Br J Haematol.* 2018;182(4):526-33. doi:10.1111/bjh.15435.
14. Kawai N, Matsuda A, Jinnai I, et al. Proposal of criteria for dyserythropoiesis in the diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Int J Hematol.* 2016;103(2):227-33. doi:10.1007/s12185-015-1916-8.
15. Dao C, Metcalf D, Zittoun R, Bilski-Pasquier G. Normal human bone marrow cultures in vitro: Cellular composition and maturation of the granulocytic colonies. *Br J Haematol.* 1977;37(1):127-36.
16. Theilgaard-Mönch K, Jacobsen LC, Borup R, et al. The transcriptional program of terminal granulocytic differentiation. *Blood.* 2005;105(4):1785-96. doi:10.1182/blood-2004-08-3346.
17. Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, et al. Proposal for refining the definition of dysgranulopoiesis in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Leuk Res.* 2014;38(4):447-53. doi:10.1016/j.leukres.2013.12.020.
18. Germing U, Strupp C, Giagounidis A, et al. Evaluation of dysplasia through detailed cytomorphology in 3156 patients from the Düsseldorf Registry on myelodysplastic syndromes. *Leuk Res.* 2012;36(6):727-34. doi:10.1016/j.leukres.2012.02.014.
19. Goud TJ, Schotte C, van Furth R. Identification and characterization of the monoblast in mononuclear phagocyte colonies grown in vitro. *J Exp Med.* 1975;142(5):1180-99. doi:10.1084/jem.142.5.1180.
20. Van Furth R, Raeburn JA, van Zwet TL. Characteristics of human mononuclear phagocytes. *Blood.* 1979;54(2):485-500.

21. Jean E. Goasguen, John M. Bennett, Barbara J. Bain, Teresa Vallespi, Richard Brunning, Ghulam J. Mufti. Morphological evaluation of monocytes and their precursors. *Haematologica* 2009;94(7):994-997; <https://doi.org/10.3324/haematol.2008.005421>.
22. Tomer A. Human marrow megakaryocyte differentiation: Multiparameter correlative analysis identifies von Willebrand factor as a sensitive and distinctive marker for early (2N and 4N) megakaryocytes. *Blood*. 2004;104(9):2722-7. doi:10.1182/blood-2004-02-0769.
23. Fox SB, Lorenzen J, Heryet A, et al. Megakaryocytes in myelodysplasia: An immunohistochemical study on bone marrow trephines. *Histopathology*. 1990;17(1):69-74. doi:10.1111/j.1365-2559.1990.tb00665.x.
24. da Silva MR, Stewart JM, Costa CH. Sensitivity of bone marrow aspirates in the diagnosis of visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2005;72(6):811-4. PMID:15964968.
25. Davies SF, McKenna RW, Sarosi GA. Trepine biopsy of the bone marrow in disseminated histoplasmosis. *Am J Med*. 1979;67(4):617-22. doi:10.1016/0002-9343(79)90243-2.