

AVALIAÇÃO DO CELL-DYN 3500

M. JOÃO A. COSTA, A. BATALHA REIS, CÂNDIDO SILVA,
ISABEL FERNANDES, STELA LOPES, ESMERALDINA JÚNIOR.
Laboratório de Hematologia. Serviço de Patologia Clínica. Hospital Santa Cruz. Carnaxide

RESUMO

O Cell-Dyn 3500 é um contador hematológico automático que analisa 22 parâmetros para a série vermelha, branca e plaquetária e fornece os respectivos histogramas. A avaliação da performance do contador foi efectuada num período de 5 semanas, segundo as normas do ICSH (International Committee for Standardization in Haematology). Efectuou-se o estudo comparativo do Cell-Dyn 3500 com o Coulter MaxM em 1235 amostras de sangue venoso (K₃EDTA). A fórmula leucocitária diferencial e o sistema de alarmes foram comparados com a observação morfológica dos esfregaços, efectuada em 506 amostras por quatro médicos patologistas clínicos com experiência em citologia. Obtiveram-se bons resultados em relação à precisão intraensaio, interensaio e ao longo dos dias, para os seguintes parâmetros: glóbulos vermelhos - RBC, hemoglobina - HGB, volume globular médio - MCV, glóbulos brancos - WBC e plaquetas - PLT. A exactidão foi avaliada diariamente (RBC, HGB, VGM, WBC e PLT) com controlos titulados de três níveis diferentes tendo-se obtido bons resultados. A linearidade foi avaliada para RBC, HGB, WBC e PLT e o arrastamento segundo o método de Broughton estudado para os mesmos parâmetros. Os resultados foram bons. No estudo da estabilidade das amostras verificou-se que os parâmetros automatizados do hemograma, incluindo a fórmula leucocitária são estáveis a 4° C até às 48 horas. À temperatura ambiente essa estabilidade só se verifica até às 7 horas. Obteve-se uma boa correlação do Cell-Dyn 3500 com o Coulter MaxM para os valores automatizados do hemograma. No estudo comparativo da fórmula leucocitária do contador com a diferencial manual, obtiveram-se excelentes resultados para os neutrófilos e linfócitos e muito bons para os monocitos e eosinófilos. Na avaliação dos alarmes foram utilizados dois critérios, um baseado no significado clínico e outro baseado nos critérios de detecção de alarmes descritos no manual do analisador hematológico. A especificidade foi boa para qualquer dos alarmes estudados em ambos os critérios. De uma maneira geral a sensibilidade foi melhor para o segundo critério. O Cell-Dyn 3500 é um bom analisador hematológico, reduzindo grandemente a sobrecarga diária na observação morfológica de esfregaços de sangue periférico.

SUMMARY

Evaluation of the Cell-Dyn 3500

The Cell-Dyn 3500 is an automated haematology analyzer which quantitatively measures and computes haematological quantities including a full "five-part" white cell differential. It measures 22 parameters for erythrocytes, white blood cells and platelets, also giving the respective histograms. Evaluation of the Cell-Dyn 3500 was performed according to the International Committee for Standardization in Haematology (ICSH) norms, for a period of 5 weeks. A total of 1.235 samples were studied by comparison with the Coulter MaxM. The *five-part* white cell differential and the flagging system were estimated and compared with the smear examination of 506 samples, by four clinical pathologists trained in cytology. Good correlation was obtained within, between batches, and day-to-day, for the following parameters: red blood cells (RBC), haemoglobin (HGB), mean cell volume (MCV), white blood cells (WBC) and platelets (PLT). The accuracy was estimated (RBC, HGB, VGM, WBC and PLT) each day with three different levels of titrated controls with good results. The linearity was established for RBC, HGB, WBC and PLT. The results obtained were good. Carry-over studies were performed according to the Broughton method for the same parameters and the results were also good. Stability studies for the automatic parameters including the differential white blood cell count showed that these parameters were stable at 4° C for 48 hours. At room temperature the stability was reduced to 7 hours. Agreement was good between the Cell-Dyn 3500 and the Coulter MaxM, for the automatic haemocytometric values. The comparative studies between the *five-part* white cell differential of the haematologic analyzer and

the manual differential showed excellent results for neutrophils and lymphocytes, very good for monocytes and eosinophils. For the flag estimation two criteria were established, one based on the clinical significance and the other based on the alarm detection described in the analyzer manual. The specificity was good for both criteria. In general the sensibility was better for the second criteria. The Cell-Dyn 3500 has thus shown to be a good haematology analyser which greatly reduces the morphological examination of smears.

INTRODUÇÃO

A introdução recente dos autoanalisadores hematológicos com contagem diferencial leucocitária e sistema de alarmes, veio permitir uma maior rapidez no processamento das amostras e uma maior precisão e exactidão dos resultados. Veio possibilitar também a execução sistemática da fórmula leucocitária que, em combinação com o sistema de alarmes e a observação dos histogramas, torna mais eficaz a separação entre amostras normais e patológicas.

O objectivo deste estudo foi avaliar o funcionamento do Cell-Dyn 3500 segundo as normas do ICSH (International Committee for Standardization in Haematology)¹, assim como avaliar a diferencial leucocitária e o sistema de alarmes.

MATERIAL E MÉTODOS

CARACTERÍSTICAS DO EQUIPAMENTO

O contador Cell-Dyn 3500 é um contador hematológico automatizado que analisa 22 parâmetros para as séries vermelha, branca e plaquetária (RBC – glóbulos vermelhos, HGB – hemoglobina, HCT – hematócrito, MCV – volume globular médio, MCH – hemoglobina globular média, MCHC – concentração média de hemoglobina globular, RDW – coeficiente de variação da distribuição do volume eritrocitário, NRBC – eritroblastos, WBC – glóbulos brancos, NEU – neutrófilos, BAND – bastonetes, IG – granulócitos imaturos, LYM – linfócitos, VARL – linfócitos atípicos, MONO – monocitos, BLST – blastos, EOS – eosinófilos, BASO – basófilos, PLT – plaquetas, MPV – volume plaquetário médio, PCT – plaquetócrito, PDW – coeficiente de variação da distribuição do volume plaquetário) e respectivos histogramas. A introdução das amostras pode ser efectuada manualmente tanto em sistema aberto ($130 \mu\text{L} \pm 5\%$) como em sistema fechado ($240 \mu\text{L} \pm 5\%$) ou automaticamente ($355 \mu\text{L} \pm 5\%$) por uma plataforma transportadora com capacidade para 100 tubos.

Para as contagens celulares dos RBC e PLT é usado o método da impedanciometria. O efeito recirculante das células que entram pelo orifício de entrada é anulado pelo *plate* de von Behrens e o efeito de coincidência da passagem das mesmas tem uma correcção estatística.

Para a determinação da HGB, os RBC são lisados, a hemoglobina é convertida em cianmetahemoglobina e determinada a 540 nm. São efectuadas cinco leituras por amostra sendo rejeitados o valor mais alto e o mais baixo. O valor final da hemoglobina resulta da média dos três valores restantes.

O MCV é determinado pela média do volume dos RBC individuais.

O HCT é calculado a partir do valor do MCV e do número de RBC.

Para a contagem dos WBC o Cell-Dyn 3500 usa a tecnologia MAPSS (Multi-Angle Polarized Scatter Separation). Esta contagem é efectuada em dois canais, num por impedância (WIC) e no outro por um sistema óptico – citómetro de fluxo (WOC). Os valores encontrados pelos dois canais são comparados e o resultado fornecido é o valor obtido pelo sistema óptico. Um volume fixo de sangue é diluído com o reagente *sheath* e como a pressão osmótica dos RBC é superior à pressão osmótica do reagente há difusão da hemoglobina para fora e de água para dentro do glóbulo. Os RBC ficam assim com o mesmo índice de refração do reagente e tornam-se invisíveis ao laser. Quando há uma diferença entre as duas contagens de WBC que ultrapasse um limite pré-estabelecido podemos estar perante uma amostra com eritroblastos aparecendo os alarmes *DLTA* e *NRBC*. Os eritroblastos só interferem na contagem por impedância, sendo o resultado dos WBC fornecido apenas pela leitura do sistema óptico.

A classificação diferencial dos WBC é efectuada no canal constituído pelo citómetro de fluxo. O reagente *sheath* como leucoprotector mantém os WBC perto do seu estado nativo, mas a estrutura dos basófilos é ligeiramente alterada devido à natureza higroscópica dos seus grânulos. A amostra é injectada por fluxo laminar de modo a que as células sejam alinhadas. Cada uma refracta a luz em todas as direcções. A intensidade da luz refractada é medida sob 4 ângulos específicos:

0° – medição do volume celular

10° – indicação da complexidade da estrutura celular

90° – medição da granularidade interna e lobularidade (detector polarizado)

90° – refração despolarizada – para separar os eosinófilos dos neutrófilos e restantes células, baseado unicamente nas características dos grânulos que transformam a luz ortogonal polarizada em despolarizada.

Esta análise a 4 dimensões é efectuada em 10 000 WBC numa amostra não patológica. Um microprocessador reúne os dados que são analisados automaticamente por um programa especializado para diferenciar basófilos, neutrófilos, eosinófilos, linfócitos e monocitos.

O contador Cell-Dyn 3500 dispõe ainda de diversos programas de controlo de qualidade. Para cada parâmetro, armazena os valores dos sangues controlo, calcula as médias, desvio padrão e coeficiente de variação, elabora as cartas de *Levey-Jennings*, verifica a correcção de cada valor pelas regras de *Westgard* e elabora as médias móveis de *Bull*.

AMOSTRAS

Analisaram-se 1 235 amostras de sangue venoso, colhidas para tubos com K₃EDTA, de doentes da população

hospitalar durante um período de 5 semanas. Todas as amostras, foram analisadas no Cell-Dyn 3500 e no Coulter MaxM. Em 506 dessas amostras, seleccionadas aleatoriamente segundo os diferentes serviços do hospital, efectuaram-se 4 esfregaços de sangue periférico, por amostra, tendo sido corados pela coloração de Wright. A morfologia celular foi observada por 4 especialistas que executaram a fórmula leucocitária diferencial em 200 células por esfregaço e por observador (800 células / amostra)². Concomitantemente foi avaliado o sistema de alarmes.

CALIBRAÇÃO

Antes de iniciar o estudo do Cell-Dyn 3500, o aparelho foi calibrado introduzindo 10 vezes o calibrador L/N:99120-01 no sistema aberto. O sistema fechado foi depois calibrado em relação ao sistema aberto, usando amostras de sangue total (5 amostras analisadas 3 vezes cada uma).

A calibração foi verificada processando diariamente controlos comerciais de níveis baixo, médio e alto.

REAGENTES E CONTROLOS

Todos os reagentes usados no Cell-Dyn 3500 foram os recomendados pelo fabricante: diluente, lisante WIC/HGB, detergente, reagente *sheath*, lubrificante da válvula *shear*, reagente enzimático de limpeza, controlos baixo, médio e alto.

CARACTERÍSTICAS OPERACIONAIS

Foram avaliadas as características de praticabilidade, precisão intraensaio, interensaio e ao longo dos dias, linearidade, exactidão, arrastamento, estabilidade das amostras a diferentes temperaturas e ao longo do tempo.

Foi efectuado o estudo comparativo do Cell-Dyn 3500 com o contador hematológico do nosso laboratório (Coulter MaxM) para os valores de RBC, HGB, MCV, HCT, RDW, WBC e PLT, e com a observação morfológica do esfregaço para a diferencial leucocitária e avaliação dos alarmes. Avaliou-se a velocidade de processamento de uma amostra e o tempo necessário para a iniciação e finalização do aparelho.

A precisão foi avaliada para diversos parâmetros: RBC, HGB, MCV, WBC e PLT.

Para estudar a precisão intraensaio, usaram-se 25 amostras diferentes que foram executadas 5 vezes consecutivas. Nos cálculos usaram-se as fórmulas do apêndice nº3 do ICSH¹.

Para a precisão interensaio, analisaram-se 25 amostras que foram executadas em três séries diferentes com o intervalo de 2 horas entre cada uma. Para os cálculos usaram-se as fórmulas do apêndice nº 2 do ICSH¹.

A precisão ao longo dos dias foi avaliada pelos resultados dos controlos que diariamente se introduziram no contador, em três níveis diferentes: baixo, normal e alto.

A exactidão foi avaliada diariamente, no início da rotina com a introdução de controlos titulados de três níveis diferentes.

A linearidade foi avaliada num determinado intervalo para os WBC (0 – 94,3 x 10⁹/L), RBC (0 – 7 x 10¹²/L), HGB (0 – 204 g/L) e PLT (12 – 942 x 10⁹/L). As amostras

foram diluídas com plasma autólogo pobre em plaquetas de modo a obter concentrações de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100%. Para cada diluição efectuaram-se duas determinações, sendo a média usada para os cálculos.

Foram efectuados estudos de arrastamento em 10 amostras segundo o método de Broughton *et al.* (1974) com uma contagem de WBC entre 2,62 e 19,4 x 10⁹/L, de PLT entre 35 e 439 x 10⁹/L, de RBC entre 1,93 e 5,42 x 10¹²/L e de HGB entre 76,5 e 174 g/L. Os cálculos foram efectuados segundo o apêndice nº 4 do ICSH¹.

O estudo da estabilidade das amostras a diferentes temperaturas (4° C, temperatura ambiente e 37° C) e ao longo do tempo (0, 7, 24, 48 e 72 horas) foi efectuado em 18 amostras, para os RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, WBC, neutrófilos, linfócitos, monocitos, eosinófilos, basófilos e PLT.

Os resultados dos diversos parâmetros obtidos no Cell-Dyn 3500 (RBC, HGB, MCV, HCT, RDW, WBC e PLT), foram comparados com os do Coulter MaxM. As 1 235 amostras divididas equitativamente pelos dois meses de duração do estudo, seleccionadas aleatoriamente segundo os diferentes serviços do hospital, foram analisadas nos dois aparelhos num intervalo máximo de 4 horas a seguir à colheita. Os resultados foram tratados por uma análise de regressão linear simples.

A diferencial leucocitária do Cell-Dyn 3500 foi comparada com a diferencial leucocitária manual num total de 506 amostras. Por cada amostra foram efectuados 4 esfregaços tendo cada um dos patologistas clínicos feito a diferencial leucocitária manual em 200 células por esfregaço (800 células por amostra). Os esfregaços de sangue foram efectuados dentro de uma hora após a análise no aparelho. As amostras foram seleccionadas a partir da população hospitalar, atendendo aos diversos serviços: consulta externa, cuidados intensivos, cirurgia, nefromedicina, cardiologia e oncologia. Os valores absolutos da diferencial manual foram calculados, multiplicando o valor em percentagem pelo número de WBC. Os resultados foram trabalhados por uma análise de regressão linear simples.

Todas as amostras analisadas para a comparação da diferencial leucocitária do Cell-Dyn 3500 com a diferencial manual, foram também avaliadas quanto aos alarmes, atendendo a dois critérios adoptados pelos autores (critério I – baseado no significado clínico dos resultados e critério II – baseado nos critérios de detecção de alarmes descritos no manual do Cell-Dyn 3500) e que foram analisados independentemente (*quadro 1*).

RESULTADOS

O aparelho demonstrou ter boas características de praticabilidade, com um processo de iniciação e finalização muito rápido, sendo mínima a manutenção necessária.

Precisão e linearidade

Nos estudos efectuados verificou-se que os resultados eram reprodutíveis e que o contador era linear para os níveis estudados (*quadro 2*).

Quadro 1 – Avaliação do sistema de alarmes segundo o critério I - baseado no significado clínico dos resultados e critério II - baseado nos critérios de detecção descritos no manual do Cell-Dyn 3500.

CRITÉRIO I (CLÍNICO)		CRITÉRIO II (CELL-DYN)
BAND	≥ 5%	> 12,5% .BAND/NEUT maduros > 50% . C.V. da mancha dos NEUT > critérios especificados . posição, densidade ou C.V. da mancha dos linfocitos > critérios especificados
VARL	≥ 5%	> 3%
IG	≥ 0,25%	. WIC - WOC > limite especificado e WIC > WOC . a área sob a curva dos WBC > 5% do total dos WBC
NRBC	> 0	> 1% . MONO > 20% WBC . MONO > 3% WBC + o desvio padrão dos MONO no eixo 0° > critérios esperados
BLST	> 0	

BAND - bastonetes, BLST - blastos, C.V. - coeficiente de variação, IG - granulocitos imaturos, MONO - monocitos, NEU - neutrófilos, NRBC - eritroblastos, VARL - linfocitos atípicos, WBC - número de glóbulos brancos corrigidos, WIC - número de glóbulos brancos contados por impedância, WOC - número de glóbulos brancos contados pelo sistema óptico.

Quadro 2 – Estudo da linearidade e da precisão intraensaio, interensaio e ao longo dos dias.

	INTRAENSAIO	INTERENSAIO duplicado	PRECISÃO (C.V. (%)) AO LONGO DOS DIAS			LINEARIDADE Intervalo	
			série	baixo	médio		alto
RBC	1,3	1,2	2,6	1,96	1,35	1,55	0 - 7 x 10 ¹² /L
HGB	1,1	1,1	2,6	1,79	1,05	1,25	0 - 204 g/L
MCV	0,7	0,7	0,2	1,49	0,81	0,73	
WBC	2,3	2,6	1,9	4,41	3,94	4,64	0 - 94,3 x 10 ⁹ /L
PLT	4,2	3,7	7,3	6,92	3,98	3,00	12 - 942 x 10 ⁹ /L

C.V. - coeficiente de variação, HGB - hemoglobina, MCV - volume globular médio, PLT - plaquetas, RBC - glóbulos vermelhos, WBC - glóbulos brancos.

Exactidão e arrastamento

Os resultados obtidos no estudo da exactidão situaram-se dentro dos limites definidos pelo fabricante para cada nível de controlo.

Os resultados do arrastamento foram bons (RBC - 0,5%, HGB - 0,2%, WBC - 0,6% e PTL - 0,8%); apenas o arrastamento das plaquetas foi ligeiramente superior ao indicado pela casa fabricante (0,1%).

Estabilidade

Os RBC mantêm-se estáveis até às 72 horas às temperaturas estudadas. A HGB só apresenta alterações significativas a partir das 24 horas a 37° C, com tendência para aumentar (*figura 1*).

O HCT, MCV, MCHC e o RDW, mantêm-se sem alterações significativas durante 72 horas a 4° C, alterando-se a partir das 7 horas à TA e a 37° C, verificando-se uma tendência para aumentar ao longo do tempo no caso do HCT, MCV e RDW, e para diminuir no caso do MCHC. O MCH mantêm-se estável a 4° C e à TA durante 72 horas, aumentando a 37° C a partir das 24 horas. Apresentam-se os gráficos dos índices determinados directamente pelo Cell-Dyn 3500, MCV e RDW (*figura 2*).

As PLT são estáveis até às 48 horas a 4° C, à TA e a 37° C (*figura 3*).

A contagem dos leucocitos é estável até às 48 horas a 4° C, começa a diminuir a partir das 24 horas à TA e das 7 horas a 37° C (*figura 3*).

Quanto à fórmula leucocitária, os neutrófilos são estáveis 48 horas a 4° C, 7 horas à TA e a 37° C, mostrando uma tendência para diminuir a partir deste tempo. Os linfocitos são estáveis 72 horas a 4° C e 7 horas à TA e 37° C, com tendência para subir às 48 horas e para descer às 72 horas, a 37° C (*figura 4*). Os monocitos são estáveis 48 horas a 4° C, 24 horas à TA e 7 horas a 37° C. Os eosinófilos são estáveis durante 72 horas a 4° C, 24 horas à TA e 37° C, com tendência significativa para subir a partir desta última temperatura (*figura 5*).

Correlação

Obteve-se uma boa correlação do Cell-Dyn 3500 com o Coulter MaxM para os parâmetros estudados - RBC, HGB, MCV, HCT, RDW, WBC e PLT (*quadro 3*).

Diferencial leucocitária

Avaliou-se a diferencial leucocitária do Cell-Dyn 3500 comparando-a com a diferencial manual, em 506 amostras. A correlação foi excelente para os neutrófilos e linfocitos e muito boa para os monocitos e eosinófilos. Para os basófilos os resultados são aceitáveis (*quadro 4*).

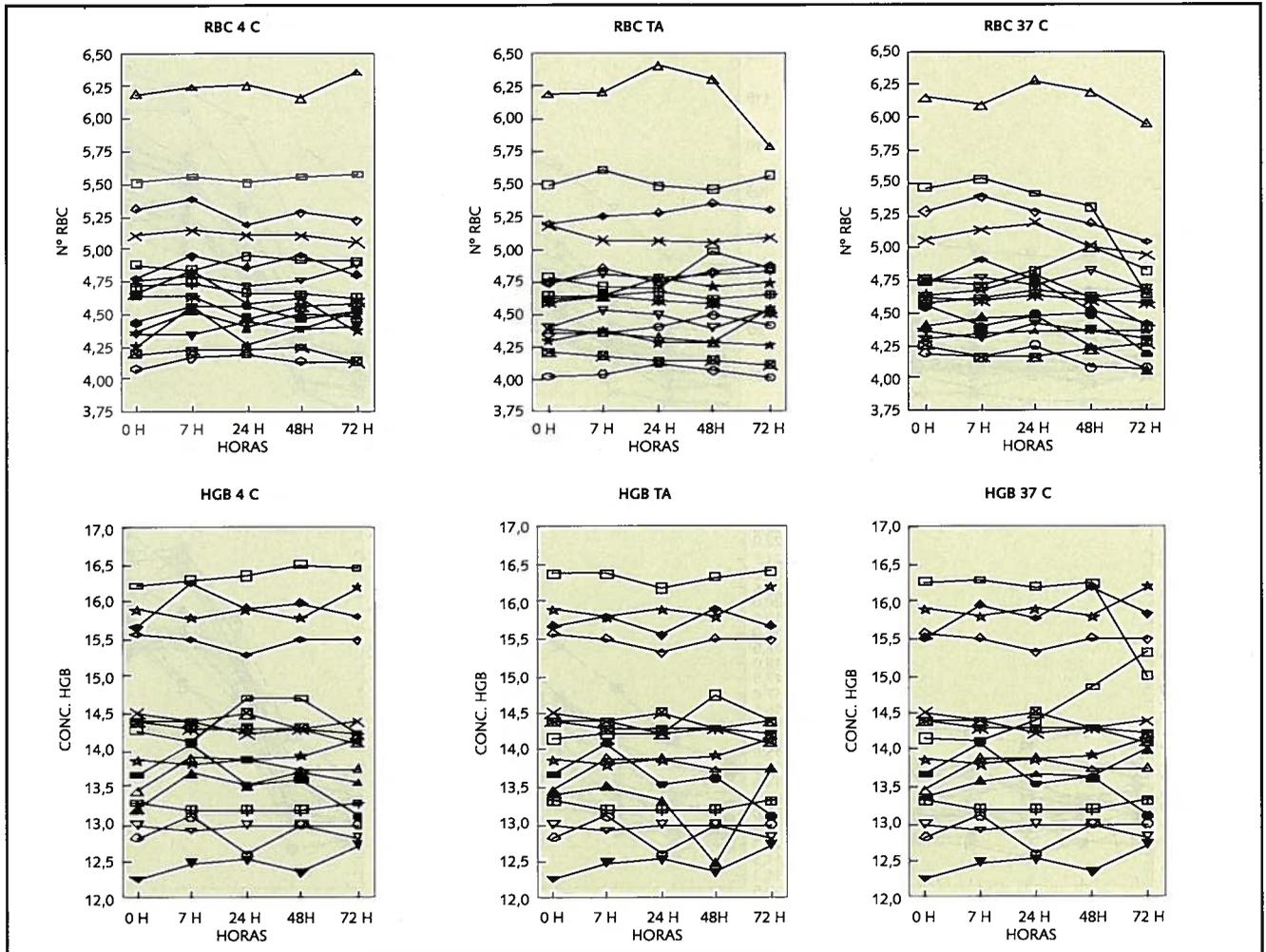


Fig. 1 – Variação dos glóbulos vermelhos e da hemoglobina ao longo do tempo (0,7,24,48 e 72 horas) às temperaturas de 4° C, temperatura ambiente e 37° C. HGB - hemoglobina (g/L), RBC - glóbulos vermelhos ($\times 10^{12}/L$), TA - temperatura ambiente.

Quadro 3 – Estudo comparativo do Cell-Dyn 3500 com o Coulter MaxM

ESTUDO COMPARATIVO DO CELL-DYN 3500 COM COULTER MAXM

	Intervalo	r	Intercepção	Declive
RBC $\times 10^{12}/L$	1,7 – 9,47	0,9949	-0,0121	1,0231
HGB g/L	62 – 255	0,9962	0,0476	0,9925
MCV fl	61,8 – 112,1	0,9652	6,3443	0,8973
HCT razão	0,176 – 0,793	0,9891	-1,1933	0,9949
RDW %	10,6 – 28,0	0,9409	0,0020	0,9285
WBC $\times 10^9/L$	0,8 – 87,5	0,9976	0,3859	0,9027
PLT $\times 10^9/L$	5 – 833	0,9844	12,5968	1,0322

HCT - hematócrito; HGB - hemoglobina; MCV - volume globular médio; PLT - plaquetas; r - coeficiente de correlação linear; RBC - glóbulos vermelhos; RDW - coeficiente de variação da distribuição do volume eritrocitário; WBC - glóbulos brancos

Avaliação do sistema de alarmes

Os alarmes foram estudados nas 506 amostras utilizadas para a diferencial leucocitária. A frequência global destes foi relativamente baixa (22,4%) devido à baixa

proporção de amostras *patológicas* na nossa população.

O sistema de alarmes do Cell-Dyn 3500 foi comparado com os resultados da observação do esfregaço para cada amostra.

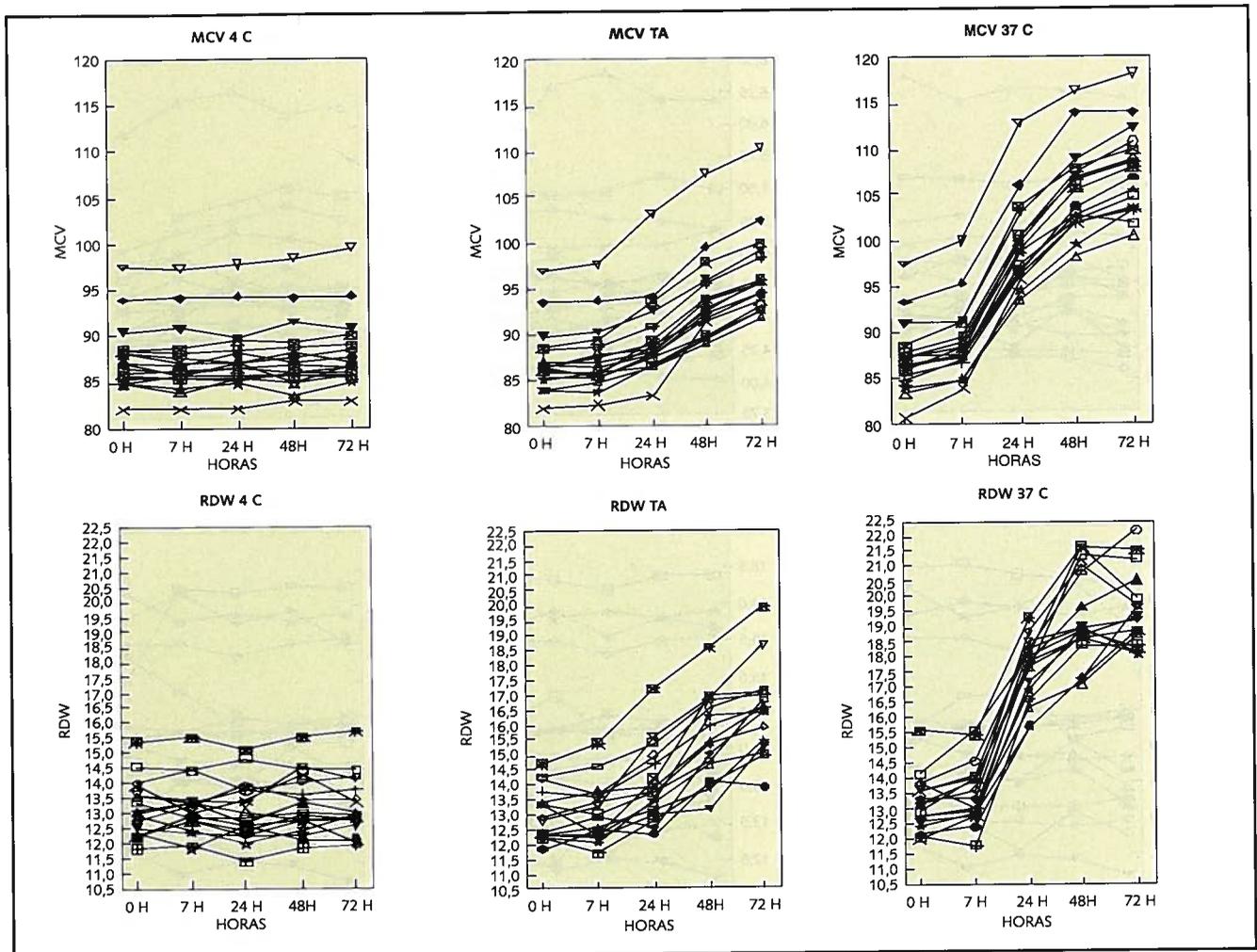


Fig. 2 – Variação do volume globular médio e do coeficiente de variação da distribuição do volume eritrocitário ao longo do tempo (0, 7, 24, 48 e 72 horas) às temperaturas de 4° C, temperatura ambiente e 37° C. MCV - volume globular médio (fl), RDW - coeficiente de variação da distribuição do volume eritrocitário (%), TA - temperatura ambiente.

Quadro 4 – Estudo comparativo da fórmula leucocitária do Cell-Dyn 3500 com a diferencial manual.

ESTUDO COMPARATIVO DA FÓRMULA LEUCOCITÁRIA DO CELL-DYN 3500 COM A DIFERENCIAL DO COULTER MAXM

	Intervalo (x109/L)	R	Intercepção	Declive
Neutrófilos	0,3 – 58,3	0,9980	0,1318	0,9053
Linfocitos	0,1 – 60,1	0,9962	0,1048	0,9385
Monocitos	0,1 – 6,4	0,9102	- 0,0156	0,9482
Eosinófilos	0 – 3,1	0,9635	- 0,0699	1,2342
Basófilos	0 – 0,6	0,3019	0,0545	0,4674

r - coeficiente de correlação linear

Para a determinação dos falsos positivos (FP), falsos negativos (FN), verdadeiros positivos (VP) e verdadeiros negativos (VN), foram utilizados os critérios I e II do quadro 1. Um VP foi considerado sempre que o resultado do Cell-Dyn 3500 estava de acordo com a observação manual, segundo o critério I ou critério II, independente-

mente. Um FP foi considerado sempre que o resultado do contador não estava de acordo com a observação manual, segundo cada um dos critérios independentemente. Determinou-se assim, a sensibilidade, especificidade, valor predictivo positivo e valor predictivo negativo para cada um dos alarmes e segundo cada um dos critérios (quadro 5).

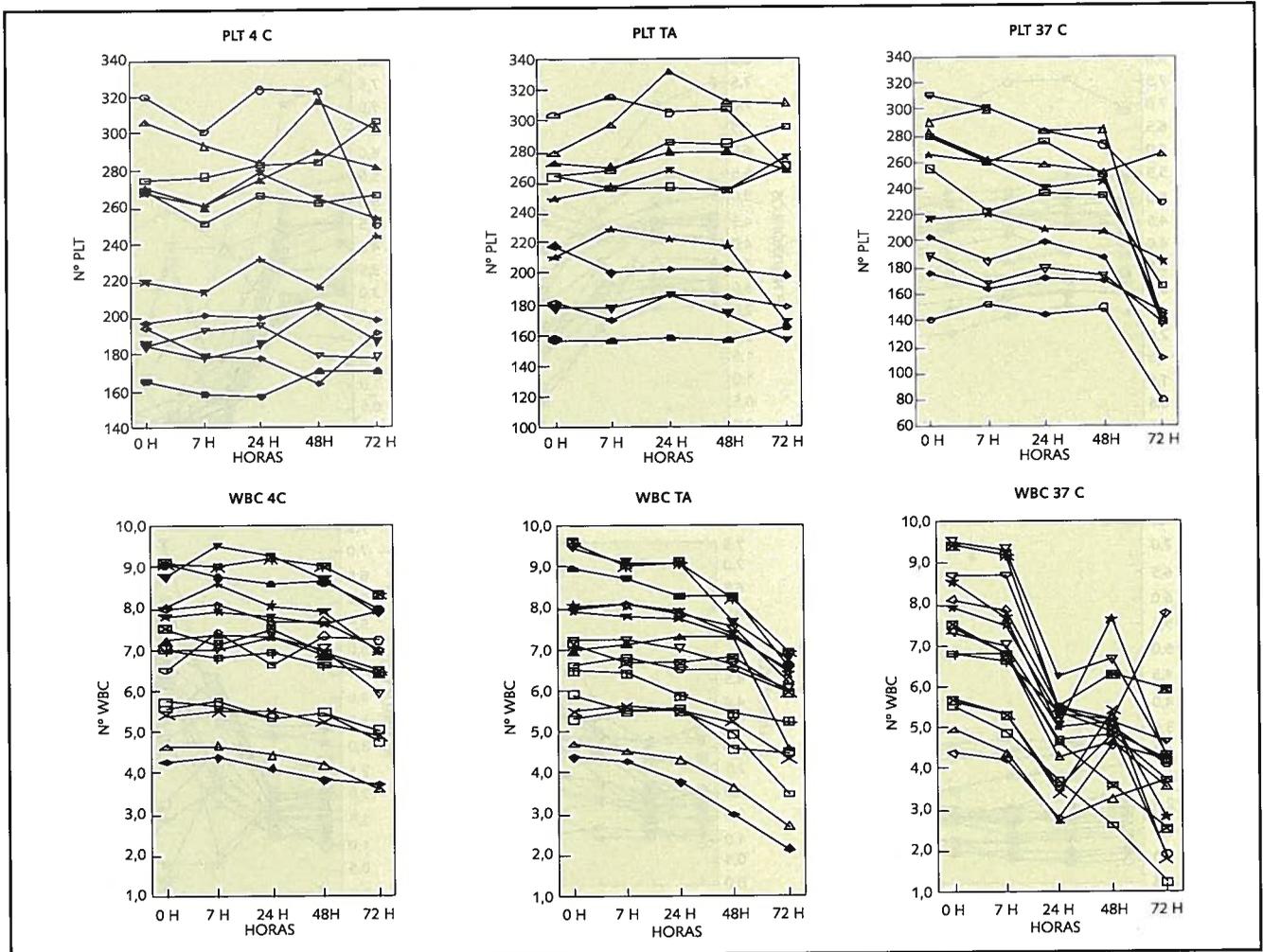


Fig. 3 – Variação das plaquetas e dos glóbulos brancos ao longo do tempo (0, 7, 24, 48 e 72 horas) às temperaturas de 4° C, temperatura ambiente e 37° C.
 PLT - plaquetas (x 10⁹/L), TA - temperatura ambiente, WBC - glóbulos brancos (x 10⁹/L).

DISCUSSÃO

O autoanalisador Cell-Dyn 3500 é um contador hematológico de avançada tecnologia e fácil manipulação. Nos estudos da precisão, exactidão, linearidade e arrastamento obtiveram-se bons resultados. Quanto à estabilidade das amostras, verificou-se que o número de RBCs é o único parâmetro que se mantém estável durante 72 horas às três temperaturas estudadas. À mesma conclusão chegou Verheul³, embora Fernández de Castro⁴ refira que essa estabilidade se verifica apenas à TA e a 4° C até às 24 horas. A concentração da HGB permanece estável até às 72 horas à TA e a 4° C, alterando-se apenas a partir das 24 horas a 37° C, observação igualmente citada por este último autor. Na literatura em geral, só é referido o estudo da estabilidade da HGB até às 24 horas, quer à TA quer a 4° C^{3,5,6,7}. O aumento do MCV a partir das 7 horas à TA e 37° C parece-nos condicionar o aumento do HCT e a diminuição do MCHC. Em relação às PLT verificou-se a sua estabilidade até às 48 horas a qualquer temperatura; no entanto, um trabalho

refere que essa estabilidade se mantém ainda às 72 horas em amostras refrigeradas⁴. Na maioria dos trabalhos publicados a estabilidade dos parâmetros acima referidos só foi estudada até às 24 horas^{5,7}. Numa amostra refrigerada, os WBCs mantêm-se estáveis durante 48 horas, mas à TA há já uma diminuição do seu número a partir das 24 horas. Noutros trabalhos está descrito que esses valores se mantêm até às 72 horas para as mesmas temperaturas. Quanto à estabilidade da fórmula leucocitária para os parâmetros estudados (NEU, LINF, MONO, EOS) verificou-se que esta se mantinha estável à TA apenas até às 7 horas porque a partir deste tempo começa a verificar-se uma tendência dos valores dos neutrófilos para diminuírem e dos linfocitos para aumentarem em relação ao valor inicial. Os autores atribuem este facto à picnose do núcleo dos neutrófilos que passariam a ser contados como linfocitos pelo analisador hematológico. Nas amostras refrigeradas a estabilidade da fórmula prolongava-se até às 48 horas sendo os linfocitos e os eosinófilos as células mais estáveis. Duma forma global, para os parâmetros automatizados do hemograma, incluindo a fór-

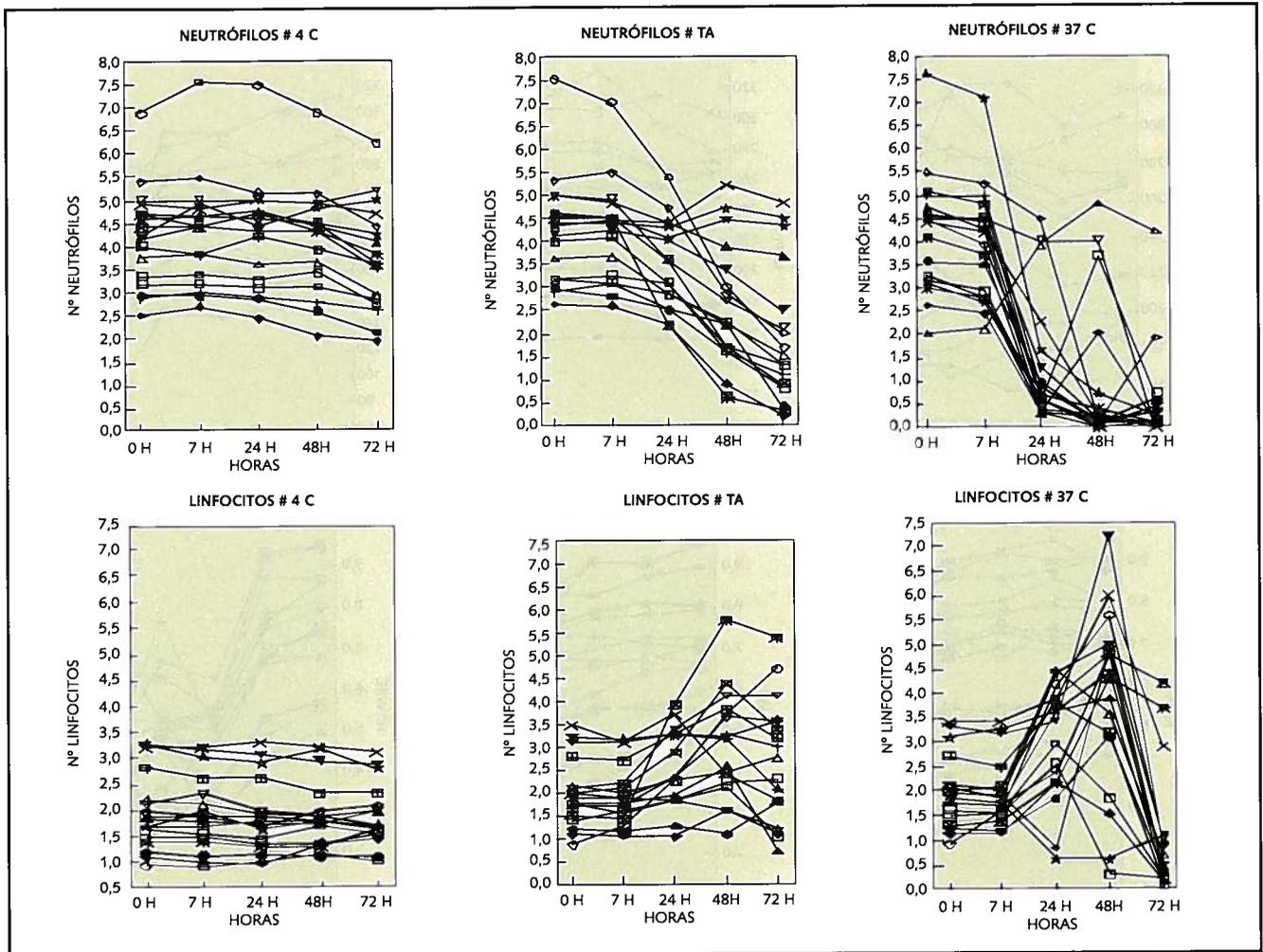


Fig. 4 – Variação do número de neutrófilos ($\times 10^9/L$) e linfócitos ($\times 10^9/L$) ao longo do tempo (0, 7, 24, 48 e 72 horas) às temperaturas de 4° C, temperatura ambiente e 37° C. TA - temperatura ambiente.

Quadro 5 – Avaliação do sistema de alarmes

	BLASTOS - BLST		GRANULOCITOS - IG	
	critério I	critério II	critério I	critério II
sensibilidade = $VP/(VP+FN)$	14,3	50,0	19,4	85,7
especificidade = $VN/(VN+FP)$	96,0	96,1	97,1	97,5
valor preditivo positivo = $VP/(VP+FP)$	4,8	4,8	60,0	60,0
valor preditivo negativo = $VN/(VN+FN)$	98,8	99,8	84,4	99,4
	BASTONETES - BAND		ERITROBLASTOS - NRBC	
	critério I	critério II	critério I	critério II
sensibilidade = $VP/(VP+FN)$	67,6	94,1	12,9	12,9
especificidade = $VN/(VN+FP)$	92,6	89,5	98,0	98,0
valor preditivo positivo = $VP/(VP+FP)$	41,7	39,0	47,1	47,1
valor preditivo negativo = $VN/(VN+FN)$	97,3	99,5	89,0	89,0
	LINFOCITOS - VARL		TOTAL	
	critério I	critério II	critério I	critério II
sensibilidade = $VP/(VP+FN)$	25,0	16,0	26,1	43,8
especificidade = $VN/(VN+FP)$	99,8	97,7	96,7	95,8
valor preditivo positivo = $VP/(VP+FP)$	50,0	26,7	40,8	38,2
valor preditivo negativo = $VN/(VN+FN)$	99,4	95,8	93,8	96,6

FN - falso negativo, FP - falso positivo, VN - verdadeiro negativo, VP - verdadeiro positivo.

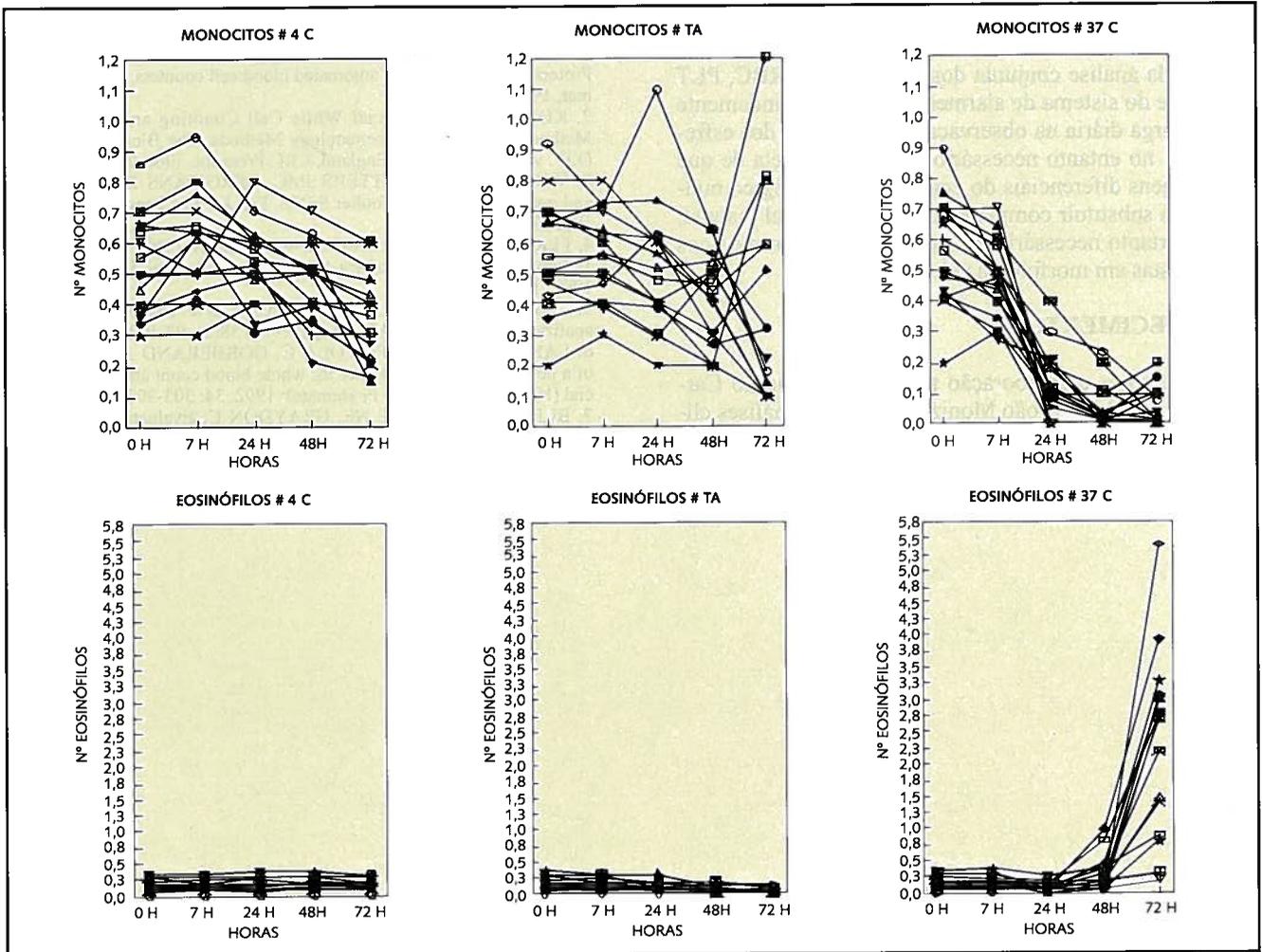


Fig. 5 – Variação do número de monócitos ($\times 10^9/L$) e eosinófilos ($\times 10^9/L$) ao longo do tempo (0, 7, 24, 48 e 72 horas) às temperaturas de 4° C, temperatura ambiente e 37° C. TA - temperatura ambiente.

mula leucocitária, as amostras são estáveis a 4° C até às 48 horas, enquanto que à TA esta só se verifica até às 7 horas.

Em relação aos valores automatizados, no estudo comparativo do Cell-Dyn 3500 e Coulter MaxM, houve uma óptima correlação para os parâmetros estudados (RBC, HGB, MCV, HCT, RDW, WBC e PLT).

A diferencial leucocitária do Cell-Dyn 3500 comparada com a diferencial manual efectuada em 800 células/amostra (506 amostras) apresentou resultados excelentes para os neutrófilos e linfócitos, e muito bons para os monócitos e eosinófilos. A fraca correlação para os basófilos pode ser atribuída por um lado ao efeito que baixos valores absolutos têm na análise dos dados e por outro lado à baixa percentagem destas células no esfregaço de sangue e ainda à contagem de maior número de células pelo Cell-Dyn 3500.

Os critérios utilizados pelos contadores hematológicos em relação aos diversos alarmes variam de instrumento para instrumento. O tipo de amostragem utilizado pelos diferentes autores também varia consideravelmente. Assim, é difícil a comparação dos resultados em relação à utilidade dos alarmes. De uma forma global podemos

dizer que, para os dois critérios utilizados na avaliação dos alarmes (clínico e do manual do contador), a especificidade foi boa para qualquer dos alarmes estudados (BLST, IG, BAND, NRBC e VARL). O mesmo foi referido por vários autores^{5,7}. Pelo contrário, outros encontraram uma especificidade muito baixa para o NRBC⁴. Para os alarmes de IG e BAND, a sensibilidade é boa para o critério II (manual do Cell-Dyn 3500), mas inferior para o critério I (clínico). Esta diferença é explicada em parte pela maior exigência deste último, nomeadamente BAND $\geq 5\%$ versus $> 12,5\%$. Em relação aos BLST a sensibilidade é moderada para o critério II e má para o critério I. Para os alarmes VARL e NRBC a sensibilidade é ainda mais baixa e muito semelhante para os dois critérios (notar que o critério clínico e o do manual são sobreponíveis para os NRBC). Podemos concluir que numa forma global a sensibilidade não é boa, por um lado devido à performance do contador, mas também pelas características da nossa amostragem (baixo número de amostras *patológicas*). Como verificado por outros autores, a sensibilidade aumenta com a intensidade das alterações.

O Cell-Dyn 3500 é um bom analisador hematológico que pode fornecer informações adicionais de grande utilidade pela análise conjunta dos histogramas (RBC, PLT e WBC) e do sistema de alarmes, reduzindo grandemente a sobrecarga diária na observação morfológica dos esfregaços. É no entanto necessário ter a consciência de que as contagens diferenciais do contador hematológico nunca podem substituir completamente a diferencial manual, sendo portanto necessário manter no laboratório médicos especialistas em morfologia celular.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração técnica da Maria do Carmo Moreira e Maria João Moniz (técnicas de análises clínicas e saúde pública).

BIBLIOGRAFIA

1. International Committee for Standardization in Haematology (ICSH), Protocol for evaluation of automated blood cell counters, *Clin Lab Haematol*, 1984; 6: 69-84
2. KOEPLER J, Differential White Cell Counting and the NCCLS Methods, *Advances in Haematology Methods, The Blood Count*, eds. O.W. van Assendeli J M England, CRC Press Inc. Florida, 1982
3. VERHEUL FEA, SPITTERS JMC, BERGMANS HF: Evaluation and performance of the Coulter STKS, *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993; 31(3):179-186
4. FERNANDÉZ DE CASTRO M, VILORIA A, EZQUIETA B, et al: Valoration del autoanalizador hematológico Coulter STKS, *Sangre*, 1992; 37 (2): 93-100
5. LAS HERAS G, MILLÁ F, RIBERA JM, et al: Evaluation del autoanalizador System 9000-AX, *Sangre* 1993; 38(2): 97-102
6. LAHARRAGUE PF, FILLOLA G, GORBERAND JX: Evaluation of a new haematology analyser for whole blood count and full differential (NE-8000) *Nouv Rev Fr Hematol*; 1992, 34: 303-307
7. BRIGDEN ML, PAGE NE, GRAYDON C: Evaluation of Sysmex NE-8000. Automated hematology analyzer in a high-volume outpatient laboratory, *Am J Clin Pathol* 1993; 100(6): 618-625