

Artigo / Article

Avaliação dos critérios de liberação direta dos resultados de hemogramas através de contadores eletrônicos

Evaluation of the direct liberation criteria of hemogram results from electronic counters

Rafael Failace¹

Patricia Pranke²

Os aparelhos de automação em hematologia oferecem alta sensibilidade e precisão na realização do hemograma na rotina do laboratório de hematologia. Para avaliar os critérios de liberação dos hemogramas por interfaceamento direto entre os contadores eletrônicos e o setor de emissão dos laudos, foram examinadas 247 lâminas de hemogramas. Entre essas, 149 lâminas foram consideradas concordantes com os critérios de liberação por interfaceamento direto enquanto 98 foram consideradas não concordantes pelos contadores automatizados Sysmex SE 9500 e Cell Dyn 4000. Dentre os hemogramas concordantes, a microscopia sem acesso aos dados numéricos mostrou alteração em apenas uma lâmina, a qual era clinicamente irrelevante. Por outro lado, entre os 98 hemogramas não concordantes, 32 apresentavam alterações. Os dados encontrados comprovam a satisfatória sensibilidade dos sistemas de automação analisados. As lâminas dos hemogramas não concordantes foram reexaminadas, com o objetivo de avaliar os resultados eletrônicos. Esse fato permitiu a análise das causas das reprovações com sugestões para eventuais simplificações do sistema. O presente trabalho mostrou que os resultados emitidos pelos contadores automáticos analisados apresentam uma alta correlação com a avaliação microscópica. Conclui-se, portanto, que os resultados dos hemogramas liberados pelos aparelhos analisados são satisfatórios e estes aparelhos são confiáveis para a rotina no laboratório de hematologia. Rev. bras. hematol. hemoter. 2004;26(3):159-166.

Palavras chave: Hemograma; automação; Cell Dyn 4000; Sysmex SE 9500.

Introdução

Sem a habilidade e a velocidade dos modernos contadores automatizados em hematologia, os laboratórios clínicos seriam incapazes de analisar eficientemente o grande volume de amostras que recebem diariamente. Os instrumentos automatizados oferecem alta sensibilidade e precisão na quantificação das células sangüíneas,¹ bem como na contagem diferencial de leucócitos. Desde 1980,

o uso da análise diferencial de leucócitos automatizada tem se tornado comum em um grande número de laboratórios.² No entanto, algumas amostras analisadas pelos contadores automatizados de células ainda requerem avaliação através da distensão de sangue periférico para permitir a observação de anormalidades morfológicas e outras alterações.¹ Sendo assim, na maioria dos laboratórios que usam contadores que fornecem fórmula leucocitária com identificação de cinco a nove tipos celulares, o exame ao

¹Laboratórios Weinmann-Faillace, Curso de Especialização em Análises Clínicas, PUCRS.

²Curso de Especialização em Análises Clínicas, PUCRS, Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Farmácia, PUCRS, Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia e Programa de Pós-graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina, UFRGS.

Correspondência para: Patricia Pranke
Av. Ipiranga n. 2752 – Faculdade de Farmácia – UFRGS
Laboratório de Hematologia - 3ª andar
90610-000 – Porto Alegre-RS – Brasil
Telefone: (51) 3316-5257 – ppranke@adufgrs.ufrgs.br

microscópio só é realizado em casos selecionados.^{3,4} Existem diversos aparelhos disponíveis no mercado que realizam o hemograma automatizado. Dentre estes, o Cell Dyn 4000 e o Sysmex SE 9500 têm sido utilizados para a análise do sangue periférico⁵⁻⁸ mostrando resultados satisfatórios para a contagem de reticulócitos,⁸⁻¹¹ eritroblastos¹² e plaquetas.¹³ Os contadores automáticos como o Cell Dyn 4000 têm mostrado bons resultados para a análise de células em apoptose¹⁴ e para a análise do aspirado de medula óssea.^{15,16} O Sysmex SE 9500 tem sido utilizado para estimar a presença de células progenitoras hematopoiéticas em sangue periférico após mobilização com fatores de crescimento, por aférese.^{17,18,19}

Nos laboratórios brasileiros considerados de grande porte, a microscopia é realizada de acordo com os seguintes critérios: idade, procedência das amostras, pedidos médicos específicos, alarmes nos resultados dos contadores eletrônicos e, principalmente, limites mínimos e máximos arbitrados para cada parâmetro numérico.⁴ O arbítrio de critérios muito amplos, limitando a porcentagem de casos a examinar, facilita o trabalho, mas amplia o número de dados perdidos.²⁰ Apesar da tecnologia eletrônica propiciar resultados confiáveis e análises de alta qualidade, tais aparelhos não são capazes de identificar muitas alterações hematológicas, que podem ser clinicamente significativas ou biologicamente relevantes. A tabela 1 apresenta as alterações hematológicas que não são identificadas pelos contadores eletrônicos. Por outro lado, critérios muito restritos contribuem de modo insuficiente para viabilizar um setor de hematologia sobrecarregado financeiramente pelo alto custo da tecnologia importada.

Tabela 1
Alterações hematológicas não identificadas pelos contadores eletrônicos⁴

Eritrograma	Policromatofilia
	Pecilocitose
	Eliptócitos
	Esferócitos
	Acantócitos
	Inclusões (Howell-Jolly, pontilhado basófilo)
	Eritroblastos < 5: 100 leucócitos
	Rouleaux
	Drepanócitos
Leucograma	Granulações tóxicas
	Desvio à esquerda sem neutrofilia
	Corpos de Döhle
	Anomalia de Pelger-Huët
	Plasmócitos
	Linfócitos atípicos sem linfocitose
	Blastos <5%
	Hairy cells

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os critérios adotados na central de Hematologia dos Laboratórios Weinmann-Faillace (Porto Alegre), para a liberação de hemogramas sem microscopia complementar. Visou, também, apreciar a seqüência de casos rejeitados, correlacionando-os com a microscopia.

Casuística e Métodos

Foram selecionadas 247 lâminas de hemogramas, sendo 149 hemogramas aprovados automaticamente pelos contadores automáticos dos Laboratórios Weinmann-Faillace e 98 hemogramas reprovados. As amostras foram selecionadas aleatoriamente, de pacientes ambulatoriais provenientes dos vários pontos de coleta do laboratório. A idade e o sexo dos pacientes não foram considerados como parâmetros de escolha ou exclusão.

As amostras de sangue periférico coletadas em EDTA foram processadas em um contador Sysmex SE 9500 (155 casos) e um Cell Dyn 4000 (92 casos). Para fins do presente trabalho foram emitidos os resultados dos aparelhos de automação e distendidas lâminas dos 247 hemogramas as quais foram renumeradas por um técnico independente.

Os resultados excluídos pelos critérios descritos na tabela 2 foram impressos automaticamente pelos contadores automáticos e recolhidos pelo operador, que distendeu e corou as respectivas lâminas. As lâminas foram, então, examinadas pelo profissional, a quem coube a liberação final dos resultados para o sistema central de processamento de dados.

Tabela 2
Parâmetros numéricos de exclusão da liberação automática

	Valores inferiores a	Valores superiores a
Eritrócitos	3,8 milhões/ μ L	5,8 milhões/ μ L
Hemoglobina	11,0 g/dL	18,1 g/dL
Hematócrito	33,0%	50,0%
VCM	75 fL	100,0 fL
HCM	25,0 pg	34 pg
CHCM	31,0%	35,0%
RDW	11,0%	15,0%
Leucócitos	3.600/ μ L	12.000/ μ L
Neutrófilos	1.800/ μ L	7.100/ μ L
Neutrófilos	30%	75%
Linfócitos	800/ μ L	3.600/ μ L
Linfócitos	10%	60%
Monócitos	100/ μ L	1.000/ μ L
Monócitos	1%	15%
Eosinófilos	*	3600/ μ L
Eosinófilos	*	30%
Basófilos	*	200/ μ L
Basófilos	*	2%
Plaquetas	140.000/ μ L	500.000/ μ L

* não há exclusão para valores mínimos

Obs: Os valores foram arbitrados pelos profissionais do laboratório, baseado na experiência dos mesmos

Procedimento técnico

Na rotina dos laboratórios Weinmann-Failace, os resultados considerados aprovados pelos contadores eletrônicos são normalmente emitidos sem interferência humana, com interfaceamento dos resultados para o sistema de processamento de dados. Para os hemogramas reprovados, a distensão de lâmina e exame microscópico são exigidos normalmente. Os critérios para a confecção e avaliação das distensões de sangue periférico são: (a) idade menor de 8 anos, devido a dificuldade de definir valores de referência nesse grupo etário; (b) procedência dos pacientes: todos os pacientes internados ou do setor de emergência dos hospitais atendidos pelos laboratórios; (c) solicitações médicas específicas (pesquisa de linfócitos atípicos, esféricos e outros); (d) limites dos parâmetros numéricos, arbitrados pelos profissionais do laboratório, de acordo com a tabela 2 e (e) alarmes emitidos pelos aparelhos. Os principais alarmes (*Flags*) compreendem: *Imm Gran* (granulócitos imaturos), *Bands* (bastões), *Blasts* (blastos), *Variant-Lymphs* (linfócitos atípicos), *NRBC* (eritroblastos), *Ptl. Clumps* (agregados plaquetários), *Review slide* (revisar lâmina), *Abn.Lymphs/aged* (linfócitos anormais/envelhecidos) e *Flafs* (incerteza no resultado).

As lâminas, sem os resultados, foram fornecidas para análise microscópica (microscopia sem acesso aos dados numéricos). A microscopia foi realizada através de um instrumento Leitz, com oculares *wide field* de 10 aumentos e objetiva de imersão de 50 aumentos. Foi seguido um rigoroso critério sequencial em relação à observação das três séries celulares, tentando notar alterações morfológicas e estimar, em bases apenas visuais, alterações numéricas.

A avaliação iniciou-se pela inspeção da série vermelha, focalizando campos onde os eritrócitos tocavam-se sem se sobreporem. Foram observados a forma, as dimensões, a coloração (com especial atenção para policromatofilia) e o empilhamento eritrocitário. Para a estimativa de plaquetas durante a microscopia sem acesso aos dados numéricos, o operador observou o número de plaquetas distribuídas na lâmina sem contá-las. Posteriormente, durante o reexame das lâminas, de posse dos resultados, a contagem de plaquetas foi levada a efeito pelo método de Fônio²¹ onde as plaquetas foram contadas em campos de aproximadamente 200 eritrócitos e o cálculo estimado de plaquetas foi realizado baseado no número de eritrócitos por microlitro. Por fim, a série branca foi observada. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em todos as amostras analisadas, usando um Leukotron LS, avaliando-se 100 células. Atenção especial foi dada para a morfologia e possíveis atipias de neutrófilos e linfócitos. Os resultados foram considerados aprovados ou reprovados de acordo com a respectiva ausência ou presença de alterações. Após a microscopia sem acesso aos dados numéricos das 247 lâminas, entre as 98 lâminas reprovadas automaticamente pelo sistema, as 32 lâmi-

nas reprovadas pelo autor foram reexaminadas acompanhadas dos respectivos resultados.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa SPSS 8.0 com 95% de intervalo de confiança. Foi realizada uma avaliação comparativa entre a contagem diferencial de leucócitos pela microscopia convencional e os resultados liberados pelos aparelhos Cell Dyn 4000 e Sysmex SE 9500. As análises estatísticas foram realizadas através do Teste T e Wilcoxon, observando-se a média da diferença no número de células encontradas entre as contagens diferenciadas realizadas pelo autor e o aparelho.

Resultados

Entre os hemogramas utilizados para este trabalho, o índice de não concordância nas análises entre os resultados obtidos pelos contadores automáticos Cell Dyn 4000 e Sysmex SE 9500 e os critérios de liberação por interfaceamento direto foi de 40%, sendo que 60% foram concordantes e liberados por interfaceamento direto.

Dentre as 149 lâminas de hemogramas concordantes pelo sistema, quando a análise da distensão sanguínea foi realizada, apenas uma lâmina apresentou leve policitose na série vermelha. Os 98 hemogramas não concordantes pelos aparelhos (Sysmex n = 75 e Cell Dyn n = 23) foram analisados através de microscopia das distensões sanguíneas e as causas de reprovação pelo sistema estão descritas na tabela 2.

As causas que levaram os aparelhos a serem não concordantes com os critérios de liberação por interfaceamento direto das amostras estão descritas na tabela 3. Após a análise microscópica, foram notadas alterações

Tabela 3
Causas de não concordância pelo sistema
(Sysmex = 75, Cell Dyn = 23)

Causas	n =	Causas	n =
Idade	5	Neutrofilia (/μL ou %)	14
Erro (sem critério)	1	Neutropenia (/μL ou %)	15
Baixo valor de E, Hgb ou Hct	17	Linfocitose (/μL ou %)	10
Alto valor de E	1	Linfopenia (/μL ou %)	5
Alto valor de Hct	1	Monocitose (/μL ou %)	4
Alto valor de VCM	17	Basofilia (/μL ou %)	1
Baixo valor de VCM	3	Trombocitose	4
Alto valor de HCM	1	Trombocitopenia	7
Baixo valor de CHCM	7	Alto valor de VPM	2
Alto valor de CHCM	1	Flags: Ptl clumps	1
Alto valor de RDW	7	Fórmula com ***	5
		<i>Imm Gran</i>	4

Obs: E = eritrócitos, Hgb = hemoglobina, Hct = hematócrito. Número maior de 98 por haver resultados não concordantes por mais de um critério.

Flags: Ptl clumps (agregados plaquetários), Imm Gran (granulócitos imaturos).

Tabela 4
Alterações notadas pela microscopia sem acesso aos dados numéricos (32 casos)

Causas	n =	Causas	n =
Rouleaux	5	Pancitopenia	1
Pecilocitose	4	Leucopenia	1
Policromatofilia	4	Neutrofilia	7
Microcitose/hipocromia	1	Neutropenia	4
E fragmentados/policromasia	1	Linfocitose	4
Trombocitose	3	Linfopenia	2
Trombocitopenia	1	Monocitose	1
Agregados plaquetários	1	Desvio à esquerda	3

Obs: Número maior de 32 por haver lâminas com mais de uma alteração.
E = eritrócitos

em 32 lâminas através da microscopia sem acesso aos dados numéricos, conforme a tabela 4.

Os resultados dos números relativos do diferencial de leucócitos para os valores de neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos foram realizados comparando-se os resultados obtidos pelo aparelho e pela microscopia. Os resultados para os valores de neutrófilos estão representados na figura 1 para demonstração.

Entre os 98 hemogramas não concordantes, em duas amostras a não concordância foi devida ao fato do Sysmex SE 9500 não ter feito a contagem diferencial completa. Por isso, as figuras 1C e 1D mostram os resultados comparativos de 96 amostras não concordantes, sendo 73 do total de 75 amostras com resultados não concordantes obtidos pelo Sysmex SE 9500. Em uma das amostras reprovadas

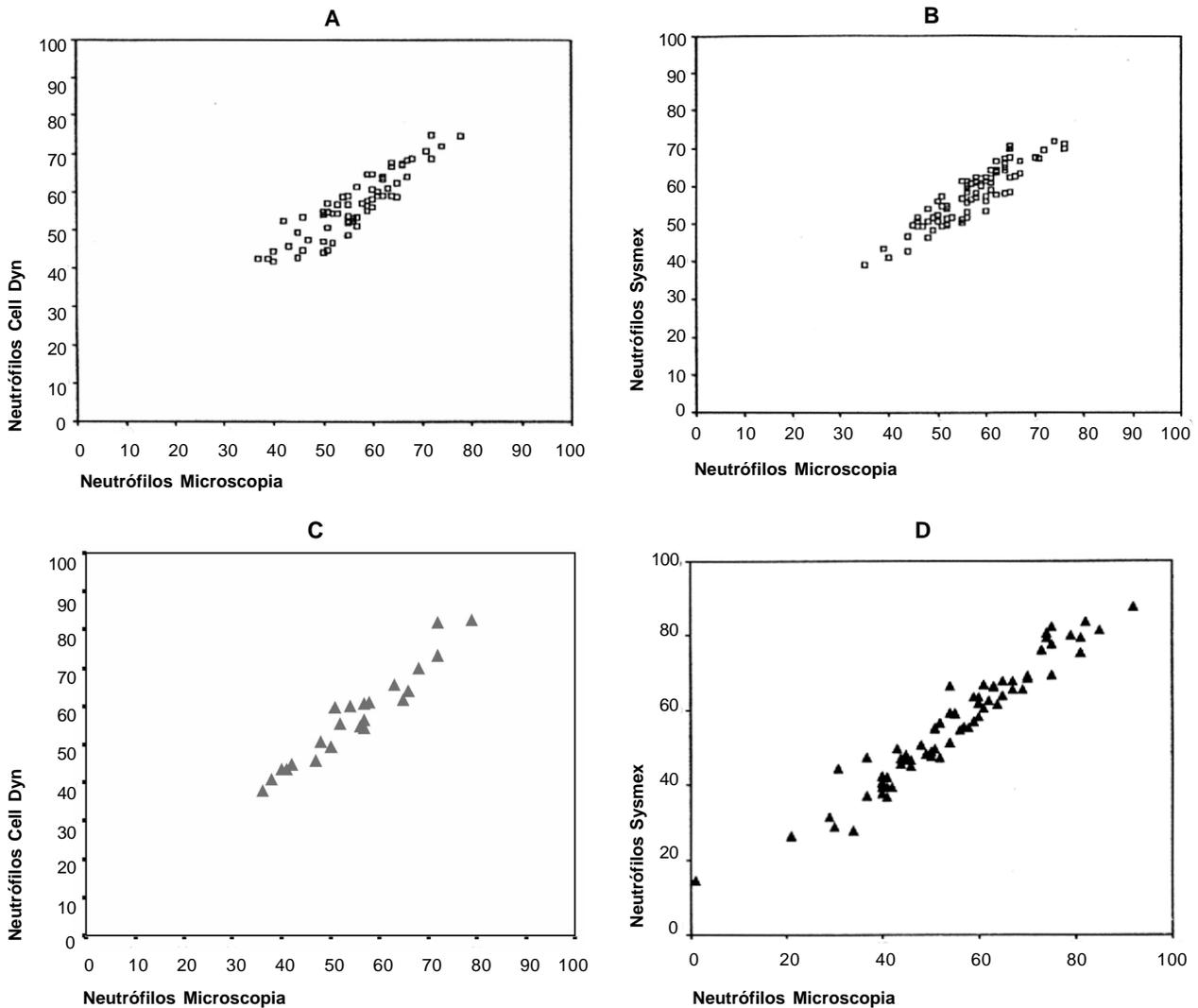


Fig. 1 – Resultados comparativos entre o número relativo de neutrófilos obtidos através de microscopia e aparelho: (A) resultado de 69 amostras aprovadas pelo aparelho Cell Dyn 4000; (B) resultado de 80 amostras aprovadas pelo aparelho Sysmex SE 9500; (C) resultado de 23 amostras reprovadas pelo aparelho Cell Dyn 4000 e (D) resultado de 73 amostras reprovadas pelo aparelho Sysmex SE 9500.

devido ao aparelho Sysmex não ter realizado a contagem diferencial completa, a observação microscópica mostrou presença de desvio à esquerda com 34% de neutrófilos bastonados, 3% de mielócitos e 1% de pró-mielócitos. Além desta, o desvio à esquerda foi confirmado em mais duas lâminas através da microscopia.

Um dos casos de não concordância pelo aparelho Sysmex SE 9500 tratava-se de uma leucemia linfocítica crônica cuja contagem de leucócitos foi de 76.000 leucócitos/ μ L. A contagem diferencial mostrava 14,2% de neutrófilos, 77,1% de linfócitos, 7,9% de monócitos, 0,1% de eosinófilos e os basófilos não foram contados. Ao realizar a contagem diferencial de leucócitos por microscopia, observaram-se 2% de neutrófilos, 97% de linfócitos e 1% de monócitos.

Quanto à contagem de plaquetas, sete amostras apresentaram trombocitopenia pela automação (uma pelo Cell Dyn 4000 e seis pelo Sysmex SE 9500). O operador observou apenas uma trombocitopenia durante a microscopia sem acesso aos dados numéricos em lâmina. Durante o reexame das lâminas, de posse dos resultados, nestas sete amostras a contagem de plaquetas pelo método de Fônio confirmou a trombocitopenia em todas as amostras. No entanto, uma das amostras continha agregados de plaquetas, cuja alteração foi acusada pelo Sysmex SE 9500. A presente observação invalidou a contagem de plaquetas nesta amostra. Sendo assim, os valores para a contagem de plaquetas obtidos nas outras seis amostras com trombocitopenia, avaliadas por automação e pelo autor, mostraram uma alta correlação com $p=0,962$.

As análises estatísticas das avaliações comparativas entre a contagem diferencial de leucócitos pela microscopia convencional e os resultados aprovados e reprovados para a liberação direta através dos aparelhos de automação em hematologia encontram-se, respectivamente, nas tabelas 5 e 6.

Discussão

Vários trabalhos na literatura têm mostrado a eficiência e a sensibilidade dos dois aparelhos de automação analisados no presente estudo, utilizados na rotina de um laboratório de hematologia.^{2,5,6,22} No entanto, não existe uma concordância total com os critérios de liberação automática de hemogramas. Há considerável variação nos equipamentos, nas populações atendidas pelos laboratórios e no nível de sensibilidade requerido.^{20,23}

O exame das 149 lâminas dos casos concordantes pelo sistema apresentou apenas uma alteração sem grande importância clínica (leve plicocitose), comprovan-

Tabela 5

Análise estatística da avaliação comparativa entre a contagem diferencial de leucócitos pela microscopia convencional e os resultados concordantes para liberação direta através dos aparelhos de automação em hematologia. As análises estatísticas foram realizadas pelo Teste T e Wilcoxon, utilizando-se o programa SPSS 8.0

	Hemogramas Aprovados					
	Cell Dyn 4000 (n =69)			Sysmex SE 9500 (n = 80)		
	Test T		Wilcoxon	Test T		Wilcoxon
	Média *	p =	p =	Média *	p =	p =
Neutrófilos	0,125	0,785	0,841	0,627	0,105	0,085
Linfócitos	0,533	0,223	0,220	1,429	<0,001	0,001
Monócitos	0,230	0,400	0,420	0,280	0,184	0,131
Eosinófilos	0,310	0,014	0,009	0,106	0,363	0,238
Basófilos	0,223	<0,001	<0,001	0,415	<0,001	<0,001

* média da diferença percentual do número de células encontradas pelo aparelho e pela microscopia realizada pelo operador

Tabela 6

Análise estatística da avaliação comparativa entre a contagem diferencial de leucócitos pela microscopia convencional e os resultados não concordantes para liberação direta através dos aparelhos de automação em hematologia. As análises estatísticas foram realizadas pelo Teste T e Wilcoxon, utilizando-se o programa SPSS 8.0.

	Hemogramas Reprovados					
	Cell Dyn 4000 (n =23)			Sysmex SE 9500 (n =75)		
	Média *	p =	p =	Média *	p =	p =
Neutrófilos	1,700	0,021	0,025	0,984 **	0,051**	0,124**
Linfócitos	2,278	0,007	0,006	1,743	0,001	0,001
Monócitos	0,165	0,768	0,879	0,521**	0,071**	0,072**
Eosinófilos	0,352	0,270	0,140	0,236	0,143	0,019
Basófilos	0,226	0,001	0,001	0,358***	< 0,001***	< 0,001***

* média da diferença percentual do número de células encontradas pelo aparelho e pela microscopia realizada pelo operador

** n = 73 (aparelho não contou 2 amostras)

*** n = 72 (aparelho não contou 3 amostras)

do que os critérios de liberação de resultados por interfaceamento direto são amplamente satisfatórios. A análise estatística das amostras aprovadas diretamente pelos aparelhos (tabela 5) mostrou alta correlação nas contagens de neutrófilos e monócitos entre a microscopia convencional e os dois aparelhos e na contagem de linfócitos pelo Cell Dyn 4000. Embora a contagem de linfócitos pelo Sysmex SE 9500 tenha mostrado diferença estatística, esta não é clinicamente importante, uma vez que a diferença média entre o número relativo de linfócitos comparando a contagem microscópica e automatizada foi de apenas 1,4% células. A contagem de eosinófilos mostrou alta correlação pelo Sysmex SE 9500 e a microscopia convencional e correlação moderada com o Cell Dyn 4000. A média da diferença de eosinófilos entre a contagem automatizada

do Cell Dyn 4000 e a do autor foi de 0,3% das células, mostrando ser altamente confiável. Grimaldi e Scopacasa²⁴ já haviam mostrado alta correlação do Cell Dyn 4000 com a contagem manual de neutrófilos e linfócitos e correlação, também, nas contagens de monócitos e eosinófilos. O presente estudo mostrou baixa correlação em relação à contagem de basófilos, resultado já descrito na literatura, onde foi demonstrada uma pequena correlação para a contagem de basófilos em amostras devido à baixa contagem desta célula. No entanto, em contagens de basófilos com 2% ou mais, a correlação parece ser satisfatória.²⁴ Peng et al⁶ mostraram que o Sysmex SE 9500 oferece excelentes resultados para as contagens das três linhagens celulares (leucócitos, eritrócitos e plaquetas) e dosagem de hemoglobina.

O exame das 98 lâminas não concordantes pelo sistema (tabela 6), por outro lado, mostra que a rejeição é igualmente satisfatória. A correlação estatística entre o número de células encontradas pelo autor e os resultados liberados pelos aparelhos foi menor em comparação aos hemogramas aprovados. Com exceção de monócitos e eosinófilos, as outras células apresentaram diferenças estatísticas importantes. Esses dados confirmam a sensibilidade e confiabilidade dos aparelhos estudados.

Tornou-se consenso nos laboratórios de hematologia que os resultados sejam liberados com os laudos diretamente emitidos dos aparelhos de automação quando nenhuma alteração for identificada pelos aparelhos. A observação obrigatória da distensão sanguínea em amostras onde alterações são indicadas garante a confiança dos resultados do hemograma no laboratório de análises clínicas. No entanto, a prática da microscopia em todos os hemogramas é economicamente inviável pelo grande número destes. Se, por um lado, existe a necessidade de redução da observação microscópica devido aos custos, por outro lado, deve-se ter a certeza que os resultados liberados diretamente oferecem qualidade satisfatória. No entanto, embora a possibilidade de dispensar a observação microscópica em todos os hemogramas pelo profissional experiente esteja longe de ser alcançada, o número de resultados falso-positivos foi de 67%, reprovando estes hemogramas sem necessidade. Embora seja preferível que resultados falso-positivos e não falso-negativos sejam liberados pelos aparelhos, o número de resultados falso-positivos poderia ser reduzido visando a redução de custos do laboratório.

O presente trabalho mostrou alta correlação quanto à contagem de plaquetas entre a avaliação automatizada e microscópica, mostrando alta eficiência em relação a esta contagem, embora Cohen et al²⁵ tenham mostrado alta prevalência de pseudotrombocitopenia em amostras analisadas pelos aparelhos automatizados. Segundo Hoedemakers et al,²⁶ outro resultado falso-positivo frequentemente encontrado através de análise pelo Cell Dyn

4000 é a indicação errônea da presença de blastos. Os autores criaram um modelo avaliando o alarme de indicação de blastos pelo aparelho combinado com a contagem de leucócitos. O modelo foi testado e passou a ser utilizado na rotina do laboratório, o que reduziu 45% a necessidade de examinar as distensões sanguíneas pela microscopia quanto a esta indicação, sem perda significativa da sensibilidade clínica.

Apesar da lista apresentada na tabela 1 de “dados perdidos” pelo aparelho ser extensa, a maioria das alterações citadas acompanha-se de alterações numéricas (ex.: anemia, leucocitose), indicando a necessidade de microscopia complementar, evitando resultados falso-negativos. Se, por um lado, muitas alterações morfológicas ou de inclusões eritrocitárias são imperceptíveis pelos aparelhos, geralmente estas alterações só são clinicamente significativas quando acompanhadas de alterações quantitativas, as quais são indicadas pelos aparelhos. Algumas anomalias, como eliptocitose, Pelger-Huët, entre outras, são curiosas, mas geralmente não têm significado clínico.

A análise dos resultados através de microscopia permitiu diversas considerações. O número de casos excluídos pela idade requer análise devido às frequentes diferenças encontradas nos hemogramas de criança. Nos 17 casos de anemia, a microscopia possibilitou verificar a presença de *rouleaux* em cinco casos que, devido à ausência de outras alterações, pode ser sugestiva de anemia de doença crônica.^{4,27} A policromatofilia presente em três casos era sugestiva de regeneração da medula óssea e a picilocitose foi observada em dois casos de anemia. A presença de eritrócitos irregularmente contraídos e “mordidos” em um caso de anemia sugeriu a suspeita de anemia por hemólise oxidativa.^{4,23,28}

No único caso com eritrocitose (eritrócitos: 6,71 milhões/ μ L, VCM: 65,3fL), a microscopia teve resultados apenas complementares, pois os índices hematimétricos já demonstravam ser um caso sugestivo de β -talassemia menor.^{4,23}

O hematócrito e o HCM são índices calculados pelo computador a partir de determinações diretas feitas pelo equipamento (eritrócitos x VCM, hemoglobina ÷ eritrócitos, respectivamente).^{4,23,29} Esses foram critérios únicos de exclusão em dois casos. Sendo índices redundantes, sugere-se retirá-los dos critérios de reprovação.

Em 15 casos com VCM entre 100 e 105 fL, nenhuma vez foi notada macrocitose à microscopia sem acesso aos dados numéricos. O reexame com pesquisa orientada foi redundante: não mostrou neutrófilos hipersegmentados, presença de ovalócitos ou sinais displásicos. O significativo número de casos no presente trabalho sugere a necessidade de pesquisa prospectiva que, se confirmar os dados obtidos, permitirá elevação do limiar de rejeição, talvez para valores de VCM maiores de 105 fL.

Em um caso com VCM de 114 fL, o *rouleaux* impossibilitava notar a macrocitose ao microscópio. O caso de macrocitose, com VCM de 110 fL correspondeu à mesma lâmina sugestiva de anemia por hemólise oxidativa^{4,23,28} descrita anteriormente.

A CHCM, embora seja um índice derivado (hemoglobina ÷ hematócrito ou HCM ÷ VCM),^{4,23} por variar pouco nas populações eritróides, é internacionalmente utilizada para avaliação dos resultados dos aparelhos de automação. Resultados de CHCM entre 30% e 36% não são notados na microscopia. Valores baixos sem causa óbvia justificam a passagem da amostra em aparelho de automação alternativo.

Nos sete casos com RDW entre 15% e 18%, em três lâminas havia pecilocitose e em quatro casos nada foi notado. Em um caso com RDW de 24,7% havia acentuada pecilocitose, anisocromia e anisocitose visual sugerindo uma anemia ferropênica em tratamento ou anemia sideroblástica.^{4,23} Estes dados mostram que a rejeição baseada no RDW deve ser mantida.

Entre as alterações da fórmula leucocitária listadas na tabela 3, a microscopia posterior confirmou os resultados do aparelho. Os números da fórmula eletrônica parecem ser mais fidedignos do que os da fórmula convencional. Por outro lado, nos casos de neutrofilia, a microscopia foi indispensável para evidenciar ou excluir desvio à esquerda, presente em três dos 14 casos.

O alarme do aparelho do tipo *Plt Clumps* (plaquetas agregadas) mostrou ser relevante e mostrou a necessidade de ser confirmado através de microscopia, invalidando a contagem de plaquetas (um caso). Houve *flags* *** em cinco casos pelo Sysmex SE 9500. Observou-se que as cinco amostras não foram processadas pelo aparelho no mesmo dia, concluindo-se, portanto, que não deve ser influência de má limpeza do aparelho. Houve quatro casos de "Imm Gran" (granulócitos imaturos) no Cell Dyn 4000. No entanto, nenhuma alteração foi observada nestas lâminas, mostrando o alto índice de resultados falso-positivos. A observação microscópica mostrou, ainda, que a *viable leukocyte fraction* (fração de leucócitos viáveis) estava acima de 0,995 em três casos e em 0,987 no caso restante, não decorrendo, portanto, de má conservação da amostra.

Os resultados obtidos confirmam a sensibilidade e confiabilidade dos aparelhos de automação analisados, mostrando que os mesmos são importantes instrumentos na rotina dos laboratórios de hematologia.

Conclusões

O presente trabalho mostra que resultados falso-negativos praticamente não existem, no que se refere à liberação do hemograma sem observação microscópica da distensão sanguínea pelo profissional. Esse fato mostra a confiabilidade dos aparelhos de automação em

hematologia. O número de hemogramas com resultados não concordantes pelos aparelhos foi elevado, o que levou à avaliação microscópica. No entanto, a maioria dos casos mostrou um alto número de resultados falso-positivos. Esse fato aumenta o custo dos laboratórios em relação à necessidade de mão-de-obra especializada para a microscopia nesses hemogramas. Sugere-se que alguns parâmetros possam ser mudados em relação aos limites arbitrados para reduzir ainda mais o número de hemogramas falso-positivos e, conseqüentemente, reduzir os custos no laboratório clínico. Entre estes parâmetros estão a elevação do valor de VCM para acima 105 fL como valor de rejeição e que valores para hematócrito e HCM não sejam usados como índices de rejeição. No entanto, o presente estudo mostrou também a importância de se manterem os valores de referência de outros parâmetros com critérios rígidos como nos índices CHCM e RDW. O presente trabalho mostrou, também, que os valores arbitrados para a contagem diferencial dos leucócitos são importantes e confiáveis. A observação microscópica cuidadosa dos hemogramas não concordantes pelo aparelho diminui a possibilidade de qualquer alteração presente não ser observada e indicada no hemograma. Esses resultados mostraram a alta confiabilidade dos aparelhos de automação em hematologia analisados, o que faz com que o clínico possa ter mais segurança no diagnóstico e acompanhamento dos pacientes.

Abstract

Automated equipment used in the hematological laboratory for routine hemograms offers high sensitivity and great accuracy. In order to evaluate the liberation criteria of hemograms by direct interfacing between the electronic counters and the emission of results, 247 hemogram slides were examined. Of these using the Sysmex SE 9500 and Cell Dyn 4000 automated counters, 149 slides were considered concordant with liberation criteria by direct interfacing while 98 were considered non-concordant. Of the concordant hemograms, microscopy without access to the numeric results showed alterations in only one slide, which was considered clinically irrelevant. On the other hand, of the 98 non-concordant hemograms, 32 showed alterations. The results demonstrate the satisfactory sensitivity of the automatic systems analyzed. The slides with the non-concordant hemograms were re-examined, in order to evaluate the electronic results. Thus, it was possible to analyze the causes of the non-concordance and give suggestions for possible simplifications of the system. This study shows that the results emitted by the assessed automatic counters presented a high level of correlation with the microscopy count. Therefore, it can be concluded that the results of the hemograms liberated by the devices are satisfactory and that these devices are reliable for the routine use within the hematological laboratory. Rev. bras. hematol. hemoter. 2004; 26(3):159-166.

Key words: Hemogram; automation; Cell Dyn 4000; Sysmex SE 9500.

Referências Bibliográficas

1. Ryan DH. Automated analysis of blood cells. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ & Silberstein LE eds. Hematology – Basic Principles and Practice 2nd. Ed. 1995. New York, Churchill Livingstone, 2223-35.
2. Matsuno K, Ishizuka S. New technology of automated blood cell differential counting. Rinsho Byori 1998;46:361-6.
3. Toledo AJO. Hemograma – interpretação técnica. Centro de Medicina Diagnóstica Fleury. 2002. São Paulo, www.fleury.com.br.
4. Failace R. Hemograma: manual de interpretação, 4^a ed., Artmed, 2003. Porto Alegre, p. 20.
5. Kawai Y, Takeuchi K, Shimizu N et al. Accuracy, precision and clinically acceptable level of complete blood count by an automated multichannel hematology analyzer. Rinsho Byori 1999;47:343-52.
6. Peng L, Gao X, Jiang H et al. Laboratory evaluation of the Sysmex SE-9500 automated haematology analyser. Clin Lab Haematol 2001;23:237-42.
7. Sandhaus LM, Osei ES, Agrawal NN et al. Platelet counting by the Coulter LH 750, sysmex XE 2100, and Advia 120: a comparative analysis using the RBC/platelet ratio reference method. Am J Clin Pathol 2002;118:235-41.
8. Van D, Devreese K, Malfait R et al. Reference intervals for a complete blood count determined on different automated haematology analyzers: Abx Pentra 120 Retic, Coulter Gen-S, Sysmex SE 9500, Abbott Cell Dyn 4000 and Bayer Advia 120. Clin Chem Lab Med 2002;40:69-73.
9. D'Onofrio G, Kim YR, Schulze S et al. Evaluation of the Abbott Cell Dyn 4000 automated fluorescent reticulocyte measurements: comparison with manual, FACScan and Sysmex R1000 methods. Clin Lab Haematol 1997;19:253-60.
10. Van den Bossche J, Devreese K, Malfait R et al. Comparison of the reticulocyte mode of the Abx Pentra 120 Retic, Coulter® General-S™, Sysmex® SE 9500, Abbott CD 4000 and Bayer Advia®120 haematology analysers in a simultaneous evaluation. Clin Lab Haematol 2001;23:355-60.
11. Kim YR, Van't Oever R, Landayan M et al. Automated red blood cell differential analysis on a multi-angle light scatter/fluorescence hematology analyzer. Cytometry 2003;56B:43-54
12. Kim YR, Yee M, Metha S et al. Simultaneous differentiation and quantification of erythroblasts and white blood cells on a high throughput clinical haematology analyzer. Clin Lab Haematol 1998;20:21-2.
13. Shimizu M, Yamamoto M, Miyachi H et al. Simple, rapid, and automated method for detection of hyperaggregability of platelets using a hematology analyzer. Am J Hematol 2003; 72: 282-3
14. Mentz F, Baudet S, Maloum K et al. Quantification of apoptosis by the Abbott CD 4000 hematology analyzer. Hematol Cell Ther 1998; 40:183-8.
15. Yamamura R, Yamane T, Hino M et al. Possible automatic cell classification of the bone marrow aspirate using the Cell Dyn 4000 automatic blood cell analyzer. J Clin Lab Anal 2002;16:86-90.
16. Sakamoto C, Yamane T, Ohta K et al. Automated enumeration of cellular composition in the bone marrow aspirate with the Cell Dyn 4000 automated hematology analyzer. Acta Haematol 1999;101:130-4.
17. Pollard Y, Watts MJ, Grand D et al. Use of the haemopoietic progenitor cell count of the Sysmex SE-9500 to refine apheresis timing of peripheral blood stem cells. Br J Haematol 1999;106: 538-44.
18. Yu J, Leisering W, Fritschle W et al. Enumeration of HPC in mobilized peripheral blood with the Sysmex SE 9500 predicts final CD34+ cell yield in the apheresis collection. Bone Marrow Transplant 2000; 25:1.157-64.
19. Peng L, Yang J, Yang H et al. Determination of the peripheral blood stem cells by the Sysmex Se-9500. Clin Lab Haematol 2001;23:231-6.
20. Chapman M. Hematology review criteria and its impact on workflow and productivity. Lab hematomol 1997;1:48-52.
21. Victor Schilling. Técnica. El cuadro hemático y su valor en la clínica. 2^o ed. Editorial Labor, S.A. 1934. Barcelona, Madrid, Buenos Aires, p. 10.
22. Koenn ME, Kirby Ba, Cook LL et al. Comparison of four automated hematology analyzers. Clin Lab Sci 2001;14:238-42.
23. Bain B. Blood cells: a practical guide, 3^o ed. Blackwell Science. 2002. London, p. 16.
24. Grimaldi E, Scopacasa F. Evaluation of the Abbott Cell Dyn 4000 hematology analyzer. Am J Clin Pathol 2000;113:497-505.
25. Cohen AM, Cycowitz Z, Mittelman Met al. The incidence of pseudothrombocytopenia in automatic blood analyzers. Haematologia 2000;30:117-21.
26. Hoedemakers RM, Pennings JM, Hoffmann JJ. Performance characteristics of blasts flagging on the Cell Dyn 4000 haematology analyser. Clin Lab Haematol 1999;21:347-51.
27. Pasquini, R. Anemias das doenças crônicas, da insuficiência renal e das doenças endócrinas. In: Zago MA; Falcão RP; Pasquini, R. Hematologia. Fundamentos e prática. Atheneu. 2001. São Paulo, 189-92.
28. Bordim JO. Outras anemias hemolíticas adquiridas. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini, R. Hematologia. Fundamentos e prática. Atheneu. 2001. São Paulo, 339-43.
29. Bowen KL, Glazier J, Mattson JC. Abbott Cell-Dyn® 4000 automated red blood cell analysis compared with routine red blood cell morphology by smear review. Clin Lab Haematol 1998;1:45-57.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer ao Dr. Renato Failace, ao Farmacêutico Bioquímico Diogo Pilger e ao setor de hematologia dos laboratórios Weinmann-Failace por todo o apoio na realização deste trabalho.

Atuaram, na avaliação, Dr. Paulo C. Naoum, como editor associado, e dois revisores externos.

Publicado após concordância com o editor.

Conflito de interesse: não declarado

Recebido: 03/03/2004

Aceito após modificações: 18/08/2004