

INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA O HEMOGRAMA AUTOMATIZADO OBTIDO NO ANALISADOR HEMATOLÓGICO CELL-DYN RUBY.

REFERENCE RANGE FOR CBC OBTAINED IN AUTOMATED ANALYZER HAEMATOLOGICAL CELL-DYN RUBY.

Tiago Costa VIANNA¹, Railson HENNEBERG², Paulo Henrique da SILVA²

1- Farmacêutico - Especialista em Análises Clínicas - UFPR - Email: thiagocosta08@hotmail.com

2- Professor Doutor do Departamento de Análises Clínicas - UFPR

RESUMO:

Com o avanço tecnológico e o desenvolvimento de modernos equipamentos automatizados de células sanguíneas, os quais possuem diferentes metodologias para a obtenção dos índices hematológicos, é necessário que o laboratório clínico obtenha um intervalo de referência equipamento-específico. O objetivo do presente trabalho foi estabelecer intervalos de referência próprios para os hemogramas realizados no Hospital Angelina Caron, localizado na cidade de Campina Grande do Sul, região metropolitana de Curitiba. As amostras foram processadas no analisador hematológico Cell-Dyn Ruby, ABBOTT. Foram analisadas amostras de sangue total de 195 indivíduos saudáveis, que foram atendidos no laboratório para a realização de exames de rotina. Em relação aos parâmetros referentes à série vermelha, os resultados obtidos são semelhantes a estudo similar realizado na cidade de Curitiba, publicado em 2011, com exceção do comportamento do RDW. A contagem total e diferencial dos leucócitos foi semelhante a outros trabalhos realizados com o mesmo fim, demonstrando a excelente *performance* analítica desta contagem, mesmo em equipamentos e populações diferentes. A contagem de plaquetas apresentou perfil semelhante a outros estudos, porém, o VPM (Volume Plaquetário Médio) demonstrou intervalos maiores quando comparados a outros intervalos de referência já publicados. Os resultados obtidos devem ser utilizados com ressalvas, pois respeitam características próprias de instrumentação e população atendida, porém ilustra de maneira prática a importância de estudos com este fim..

Palavras-chave: Cell-Dyn Ruby, Intervalo de Referência, Leucócitos, Plaquetas, Eritrócitos.

ABSTRACT:

With technological advancement and the development of modern automated blood cells, which have different methodologies for obtaining the hematological indices, it is

The aim of this study was to establish reference ranges for blood tests conducted themselves in Hospital Angelina Caron, located in the city of Campina Grande do Sul, metropolitan region of Curitiba. The samples were processed in the hematology analyzer Cell-Dyn Ruby, ABBOTT . We analyzed blood samples from 195 healthy subjects who were treated in the laboratory to conduct routine examinations. The parameters will refer red series, the results are similar to a similar survey conducted in the city of Curitiba, published in 2011, except for the behavior of the RDW. The total and differential count of leukocytes was similar to other studies conducted with the same purpose, demonstrating excellent analytical performance of this score, same equipment and in different populations. Platelet count showed a profile similar to other studies, however, MPV (mean platelet volume) demonstrated greater intervals when compared to other reference intervals have published. The results should be used with caution, because respect instrumentation characteristics and population met but practical way of illustrating the importance of studies to this end.

Keywords: Cell-Dyn Ruby, Reference Range, leukocytes, platelets, erythrocytes.

1. INTRODUÇÃO

Os dados coletados durante a consulta médica, os exames solicitados e suas investigações suplementares precisam ser interpretados por comparação com dados de referência que reflitam de maneira satisfatória uma série de fatores que são característicos de uma população saudável ou doente (SOLBERG, 1998). Os intervalos de Referência podem ser definidos como um conjunto de valores de uma quantidade medida obtidos a partir de um grupo de indivíduos em um estado definido de “saúde”. Os valores de referência são geralmente obtidos de indivíduos selecionados através de critérios bem estabelecidos (WINKEL, STATLAND, 1995). Fatores pré-analíticos, métodos utilizados, sexo, idade devem ser respeitados de maneira rigorosa para que a comparação dos dados seja confiável.

O estabelecimento de limites de referência em uma determinada população é um procedimento difícil e dispendioso, contudo, os laboratórios devem, quando possível, estabelecer seus próprios limites usando suas próprias técnicas e instrumentação (BAIN, 2004). Para que os limites de referência sejam uteis na avaliação dos resultados hematológicos, deve ser levado em conta, além do sexo e idade, a origem étnica do paciente (BAIN, 2004), o local da coleta (altitude), o tipo de equipamento hematológico utilizado, o controle de qualidade interno e externo e se o laboratório passa por um processo de acreditação (BRIGGS et al.,2000; BRIGGS et al.,2007)

A contagem global das células sanguíneas é realizada principalmente pela impedância elétrica e pela dispersão a laser. Dentre os modelos de analisadores hematológicos comercializados no mercado há uma grande variação entre os métodos utilizados, principalmente na dosagem da hemoglobina e na contagem de leucócitos. Um exemplo disto, é a série Cell-Dyn produzida pela ABBOTT®. Os modelos 1400 e 1700 utilizam apenas a impedância elétrica como método de contagem, enquanto que os modelos Cell-Dyn 3000, 3500 e 3700, conciliam a impedância elétrica e a dispersão a laser. Portanto, fica claro que os parâmetros obtidos nestes equipamentos diferem e seus limites de referência devem ser distintos. O sistema Cell-Dyn Ruby é um analisador de hematologia multi-parâmetros automatizado projetado para uso diagnóstico *in vitro* em laboratórios clínicos de médio e grande porte.

A modelo Cell-Dyn Ruby fornece 22 parâmetros em sua maioria feita a laser por citometria de fluxo. Para a contagem diferencial dos leucócitos são analisados tamanho, complexidade, lobularidade e granularidade em ângulos que variam entre 0 a 90 graus. Estas informações são posteriormente utilizadas para compor uma contagem diferencial em cinco partes pelo processo denominado MAPSS (Multi-Angle-Polarised-Scatter-Separação). Esta tecnologia tem por função fornecer leituras ópticas precisas por dispersão da luz polarizada em diferentes ângulos para a diferenciação dos leucócitos. Além disso, sua identificação acurada com o uso de 4 ângulos de dispersão de laser facilita uma análise de dispersões múltiplas do laser, para identificar células anormais e substâncias interferentes (LEHTO & HEDBERG, 2007).

O Cell Dyn Ruby é um equipamento diferenciado para a contagem de plaquetas, composto por dois ângulos ópticos oferecendo acurácia na contagem, o que assegura resultados confiáveis na primeira corrida. O equipamento libera o hemograma completo com velocidade acima de 80 testes/hora, utilizando apenas 3 reagentes (WBC Lyse, HB Lyse e Diluente/Sheath). Possui ainda, módulo para a contagem de reticulócitos além da liberação de diversos histogramas que facilitam a interpretação do teste (LEHTO & HEDBERG, 2007).

O objetivo do presente trabalho é estabelecer intervalos de referência próprios para os hemogramas realizados no Hospital Angelina Caron, localizado na cidade de Campina Grande do Sul, região metropolitana de Curitiba, no estado do Paraná. O laboratório do referido hospital possui o equipamento descrito acima e atualmente utiliza como valor de referência dados obtidos na região de Curitiba, publicados em 2011 na Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A coleta dos dados foi obtida através de indivíduos atendidos no Laboratório

Clínico Caboracy Kosop do Hospital Angelina Caron, localizado no município de Campina Grande do Sul, região metropolitana de Curitiba. Foram analisados 195 indivíduos (87 homens e 108 mulheres) com idade superior a 12 anos os quais possuíam consulta médica e exames de rotina agendados. As amostras foram coletadas em tubo de EDTA K³ (5 ml), marca BD, devidamente identificado, sendo armazenadas por um período de 30min a 3h até serem processadas.

As análises hematológicas foram processadas no analisador hematológico Cell-Dyn Ruby, comercializado pela ABBOTT, devidamente calibrado conforme os procedimentos informados no manual do fabricante. Os participantes deste estudo foram selecionados aleatoriamente no período de setembro a dezembro de 2012, segundo uma seleção que incluía: exames considerados como rotina; avaliações de dados anteriores para excluir doenças passadas; residência em Curitiba e região metropolitana. Idade ou sexo não foram usados como critérios de inclusão ou exclusão.

Os intervalos de referência foram obtidos a partir de percentis 2,5 e 97,5% acumulados em distribuição normal. Quando a normalidade não poderia ser atingida, o intervalo de referência a 95% foi obtida com a ajuda de estatísticas ordinais não-paramétricas. As análises foram realizadas utilizando uma folha de cálculo Excel (Microsoft), e pelo pacote estatístico 8,0 Statistica (StatSoft). A significância estatística foi definida para um valor de $p < 0,05$.

Os parâmetros hematológicos analisados foram: contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), *Red Cell Distribution Width* (RDW), Contagem total e diferencial dos leucócitos, Granulócitos Imaturos (IG%), Blastos (Blast%), contagem de plaquetas, Volume Plaquetário Médio (VPM), *Platelet Distribution Width* (PDW) e plaquetócrito (PCT).

3. RESULTADOS

Todos os cálculos para determinar intervalos de referência foram baseados nas diretrizes do Conselho Nacional de Serviços de Laboratório Clínico (TETRAULT, 200). Seguindo as recomendações do NCCLS, os intervalos de referência para a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito foram divididos de acordo com o sexo (Tabelas 2 e 3). Para os outros parâmetros, o intervalo de referência foi obtido de todos os participantes do estudo. A tabela 1 apresenta os intervalos de referência sem a distinção do sexo.

Tabela 1 - Médias e intervalos de referências para os parâmetros hematológicos fornecidos pelo equipamento CELL-DYN RUBY (sem distinção de sexo).

Geral	Média	DP	2.5th	97.5th
Leucócitos ($\times 10^9/l$)	8.4	10.02	4.6	10.0
Segmentado (%)	52.5	9.13	35.7	67.6
Bastonetes (%)	4.8	3.96	0.0	16.3
IG (%)	0.9	0.42	0.3	1.9
Blast (%)	1.4	12.61	0.0	0.4
Monócitos (%)	7.9	2.22	3.3	12.6
Eosinófilos (%)	3.0	2.42	0.2	7.5
Basófilos (%)	1	0	1	2
Linfócitos (%)	28.6	8.23	14.4	42.0
Eritrócitos ($10^{12}/l$)	4.9	0.45	4.0	5.6
Hemoglobina (g/dl)	14.4	1.13	11.8	16.0
Hematócrito (%)	47.3	41.14	34.8	47.4
VCM (fl)	87.7	4.38	79.2	95.0
HCM (pg)	29.5	1.98	25.5	32.6
CHCM (g/dl)	33.6	1.09	31.4	35.3
RDW (%)	10.8	0.90	9.6	13.0
Plaquetas ($\times 10^9/l$)	212.4	49.92	141.0	331.0
VPM (fl)	9	2	7	13
PCT (%)	1.3	10.69	0.1	0.3
PDW (%)	20.1	1.12	18.1	22.2

Nota: IG(%) = Granulócitos Imaturos, Blast (%)= blastos, DP=Desvio Padrã

As tabelas 2 e 3 apresentam os intervalos de referência para os parâmetros eritrocitários de acordo com o sexo. Para uma comparação com outros trabalhos já publicados, a contagem diferencial dos leucócitos está apresentada apenas pela contagem percentual.

TABELA 2. Médias e intervalos de referências para os parâmetros hematológicos em indivíduos do sexo masculino fornecidos pelo equipamento CELL-DYN RUBY.

Masculino	Média	DP	2.5th	97.5th
Eritrócitos ($10^{12}/l$)	4.6	0.40	4.1	5.7
Hemoglobina (g/dl)	13.2	0.94	12.2	16.3
Hematócrito (%)	40.0	2.90	36.9	47.8
VCM (fl)	87.2	3.47	77.3	95.0
HCM (pg)	28.9	1.48	25.6	32.9
CHCM (g/dl)	33.1	0.88	31.2	35.5
RDW (%)	10.9	0.80	9.5	12.8

Nota: DP=Desvio Padrão

TABELA 3. Médias e intervalos de referências para os parâmetros hematológicos em indivíduos do sexo feminino fornecidos pelo equipamento CELL-DYN RUBY.

Feminino	Média	DP	2.5th	97.5th
Eritrócitos ($10^{12}/l$)	4.6	0.40	4.0	5.4
Hemoglobina (g/dl)	13.2	0.94	11.5	15.0
Hematócrito (%)	40.0	2.90	34.7	45.4
VCM (fl)	87.2	3.47	80.2	93.6
HCM (pg)	28.9	1.48	25.5	31.8
CHCM (g/dl)	33.1	0.88	31.5	34.9
RDW (%)	10.9	0.80	9.6	13.1

4. DISCUSSÃO

Nos últimos anos, os analisadores hematológicos evoluíram em suas tecnologias de análise celular e no desenvolvimento de novos softwares, o que melhorou a eficiência analítica e aumentou as informações prestadas por estes equipamentos. Aliado a isto, tornou-se obrigatório o conhecimento especializado sobre estas novas tecnologias para que a aplicação clínica dos novos parâmetros hematológicos sejam corretamente aplicados (BUTTARELLO & PLEBANI, 2008).

No presente trabalho foram analisadas amostras de sangue venoso de 195 indivíduos para a determinação de intervalos de referência dos parâmetros hematológicos disponibilizados pelo equipamento Cell-Dyn Ruby, comercializado pela Abbott. O objetivo deste trabalho é obter intervalos de referência próprios, que respeitem as características do equipamento hematológico e da população atendida pelo laboratório Caboracy Kosop do Hospital Angelina Caron, localizado no município de Campina Grande do Sul, região metropolitana de Curitiba. Dentre os fatores que influenciam a obtenção dos intervalos de referência de um determinado teste laboratorial, pode-se destacar os critérios de seleção dos indivíduos do estudo, a metodologia utilizada e os métodos estatísticos aplicados (VAN DEN BOSSCHE *et al.*, 2002).

A determinação dos intervalos de referência para o hemograma é tema recorrente dentre a comunidade científica, porém, nos últimos anos com a introdução de novos métodos e parâmetros hematológicos, este tema voltou a despertar maior interesse. Seguindo as recomendações do NCCLS os intervalos de referência para a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito foram separados de acordo com o sexo. Para os outros parâmetros o intervalo de referência foi obtido de todos os participantes do estudo.

Valdati *et al* (2011) publicou estudo semelhante em Curitiba, utilizando como

analisador o modelo Pentra 120 comercializado pela ABX-HORIBA. Comparando os resultados, de todos os parâmetros da série vermelha, o RDW foi o único parâmetro que demonstrou diferença considerável em relação à média e ao intervalo de referência obtido. A média de 13,7% encontrada no equipamento Pentra 120 é maior que a obtida no presente trabalho (10,6%), bem como o intervalo de referência (11,8 - 16,7% para o Pentra 120 e 9,6- 13,1 no Cell-Dyn Ruby).

RDW foi o único parâmetro que demonstrou diferença considerável em relação à média e ao intervalo de referência obtido. A média de 13,7% encontrada no equipamento Pentra 120 é maior que a obtida no presente trabalho (10,6%), bem como o intervalo de referência (11,8 - 16,7% para o Pentra 120 e 9,6- 13,1 no Cell-Dyn Ruby).

As diferenças metodológicas podem explicar este comportamento do RDW nos dois equipamentos. O Pentra 120 analisa o eritrócito por impedância elétrica, enquanto que o analisador Cell-Dyn Ruby utiliza como método de análise celular a dispersão a laser, após a esferotização dos eritrócitos centralizando as células pelo fluxo hidrodinâmico, o que diminui as variações de volume durante o período de contagem. Van Hove *et al* (1999) analisando os analisadores Cell-Dyn em seus vários modelos, publicou diferenças no intervalo de referência para o RDW entre o Modelo 4000 (10,9-14,2%) e o modelo 3700 (12,1-16,1%), o que também pode ser explicado pela metodologia utilizada nos dois modelos. O modelo Cell-Dyn 3700 utiliza a impedância sem o foco hidrodinâmico enquanto que o modelo Cell-Dyn 4000 utiliza a tecnologia a laser.

Na contagem de leucócitos, o limite inferior encontrada no presente estudo foi maior do que o verificado no trabalho de Valdatti *et al* (2011). Além deste parâmetro, a contagem de eosinófilos apresentou intervalos diferentes. O intervalo encontrado no equipamento Cell-Dyn Ruby (0,2 a 7,5%) foi menor do que o encontrado no analisador Pentra 120 (0 a 13%). Os critérios de seleção e as características da população incluída nos dois estudos devem ser considerados para explicar estas diferenças. A população atendida no trabalho publicado por Valdatti *et al* (2011) era composta por indivíduos atendidos nos Postos de Saúde da cidade de Curitiba, enquanto que no atual estudo, os participantes eram familiares de pacientes internados no Hospital Angelina Caron.

Comparando nossos resultados com o trabalho publicado por Van den Bossche e colaboradores em 2002, os intervalos de referência para a contagem de eritrócitos, dosagem de hemoglobina e hematócrito apresentou valores superiores. Utilizando cinco diferentes equipamentos (Advia 120 Siemens; Gen-S Coulter; Pentra 120, Horiba; Cell-Dyn 4000 Abbott e SE 9000 Sysmex), o autor estabeleceu intervalos de referência para cada tipo de equipamento, respeitando as diferentes tecnologias empregadas nestes aparelhos. O RDW apresentou perfil variado entre os equipamentos, o que corrobora para explicar a influência que a metodologia possui sobre a obtenção deste parâmetro hematológico.

Com relação à contagem total e diferencial dos leucócitos, no presente trabalho os resultados encontrados são semelhantes aos publicados por Van den Bossche para a contagem total e diferencial de leucócitos (VALDATI *et al.*, 2011), o que comprova a estabilidade desta contagem em indivíduos normais.

Em relação à contagem de plaquetas, os resultados encontrados são semelhantes aos trabalhos já publicados. A contagem de plaquetas foi ligeiramente maior no grupo feminino, confirmando dados da literatura (VAN DEN BOSSCHE *et al.*, 2002). O Volume Plaquetário Médio (VPM) é parâmetro hematológico que reconhecidamente apresenta grande variabilidade em relação ao seu intervalo de referência, devido a fatores metodológicos. O intervalo obtido neste estudo (7-13 fl) é maior do que a maioria dos trabalhos já publicados, o que confirma dados da literatura, onde a variação do intervalo de referência para o VPM pode chegar a 40% (REARDON *et al.*, 1985, TROWBRIDGE *et al.*, 1985). A variação encontrada para o VPM, comprova a menor *performance* que a análise de plaquetas possui, em relação a contagem de leucócitos e eritrócitos. Outra explicação para o perfil heterogêneo do VPM nos diversos estudos seria a influência pré-analítica, entre o tempo percorrido da coleta até a análise propriamente dita da amostra no equipamento (BUTTARELLO & PLEBANI, 2008). Desta forma, os resultados encontrados para o VPM são exclusivos para a população estudada neste trabalho.

O conhecimento de intervalos de referência equipamento-específico é fundamental para a correta interpretação dos resultados liberados por estes analisadores. Desta forma, o presente trabalho, através de seus resultados, demonstra a importância deste tipo de estudo, o que justifica plenamente sua realização.

5. REFERÊNCIAS

BAIN JB. Valores de referência. In: BAIN JB, editor. Células Sangüíneas: Um guia prático. 3ª edição ed. Porto Alegre: Artmed; 2004. p. 191-206

BRIGGS C, HARRISON P, GRANT D, STAVES J, MACHIN SJ. New quantitative parameters on a recently introduced automated blood cell counter--the XE 2100. *Clinical and laboratory haematology*. 2000;22(6):345-50. Epub 2001/04/25.

BRIGGS C, HARRISON P, MACHIN SJ. Continuing developments with the automated platelet count. *Int J Lab Hematol*. 2007;29(2):77-91. Epub 2007/05/04.

BUTTARELLO M, PLEBANI M. Automated blood cell counts: state of the art. *American journal of clinical pathology*. 2008;130(1):104-16. Epub 2008/06/14.

LEHTO T, HEDBERG P. Performance evaluation of Abbott CELL-DYN Ruby for routine use. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2007;30:400-7.

REARDON DM, HUTCHINSON D, PRESTON FE, TROWBRIDGE EA. The routine measurement of platelet volume: a comparison of aperture-impedance and flow cytometric systems. *Clinical and laboratory haematology*. 1985;7(3):251-7. Epub 1985/01/01.

SOLBERG HE. Estabelecimento e Uso de Valores de Referência. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz: Fundamentos de Química Clínica*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A.; 1998. p. 179-88.

TETRAULT GA. Laboratory statistics. In: HARRY J, editor. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. Philadelphia: Saunders; 2000. p. 138-47.

TROWBRIDGE EA, REARDON DM, HUTCHINSON D, PICKERING C. The routine measurement of platelet volume: a comparison of light-scattering and aperture-impedance technologies. *Clinical physics and physiological measurement : an official journal of the Hospital Physicists' Association, Deutsche Gesellschaft fur Medizinische Physik and the European Federation of Organisations for Medical Physics*. 1985;6(3):221-38. Epub 1985/08/01.

VALDATI KD, HENNEBERG R, do NASCIMENTO AJ. Hematological reference ranges among healthy adults of Curitiba, PR, Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2011;33(5):395-6. Epub 2011/01/01.

VAN DEN BOSSCHE J, DEVREESE K, MALFAIT R, VAN DE VYVERE M, WAUTERS A, NEEIS H, et al. Reference intervals for a complete blood count determined on different automated haematology analysers: Abx Pentra 120 Retic, Coulter Gen-S, Sysmex SE 9500, Abbott Cell Dyn 4000 and Bayer Advia 120. *Clin Chem Lab Med*. 2002;40(1):69-73. Epub 2002/03/28.

VAN HOVE L, SCHISANO T, BRACE L. Anemia Diagnosis, Classification, and Monitoring Using Cell-Dyn Technology Reviewed for the New Millennium. *Laboratory Hematology*. 1999;6:93-108.

WINKEL P, STATLAND BE. Interpretando os resultados laboratoriais: Valores de Referência e Tomada de decisões. In: Henry JB, editor. *Diagnósticos Clínicos & Tratamento: Por Métodos Laboratoriais*. 18ª ed. São Paulo: Editora Manole Ltda;