

Os resultados mostraram que o sistema analisador hematológico Sysmex XS 1000i pode ser usado na determinação do número de plaquetas em produtos obtidos em Bancos de Sangue.

Os dados mostraram que não houve diferenças significativas entre os métodos manual (gold standard) e automatizado Sysmex. Por outro lado, o sistema Sysmex XS 1000i, com extensa faixa de linearidade e grau de precisão de 99%, permitiu, com rapidez e eficiência, as determinações do número de plaquetas nas amostras de CPBC e CP/PRP.

Outros estudos já estão sendo realizados para avaliações e padronização do sistema Sysmex nas determinações do número de leucócitos e eritrócitos em concentrados de hemácias e concentrados de plaquetas.

Concluindo, no presente estudo, o uso do sistema automatizado Sysmex XS 1000i apresentou resultados satisfatórios e mostrou ser uma eficiente ferramenta no controle de qualidade de plaquetas em Bancos de Sangue.

- [1] Hoffbrand AV, Pettit JE. Platelets, Blood Coagulation and Haemostasis. In: Hoffbrand AV, Pettit JE. Essential Haematology. London: Blackwell Science; 1993. p.94-p.120.
- [2] Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count. *Int J Lab Hem* 2007; **29**: 77-91.
- [3] Delgado AV, Alexander SL, McManus AT, Pusateri AE. Antibodies against cell receptors, CD36, CD41a, and CD62P crossreact with porcine platelets. *Clin Cytometry* 2003; **56B**: 62-7.
- [4] Parise LV, Smyth SS, Collier BS. Platelet morphology, biochemistry, and function. In: Beutler E, Lichtman MA, Collier BS, Kipps TJ, Seligsohn U. Williams Hematology. USA:Mc Graw Hill; 2001. p.1357-408.
- [5] Felle P, McMahon C, Rooney S, Donnelly P, Nichonchubhair F. Platelets in the paediatric population: the influence of age and the limitations of automation. *Clin Lab Haem* 2005; **27**: 250-257.
- [6] Kerkhoffs JHL, Eikenboom JC, Schipperus MS, et al. Amulticenter randomized study of the efficacy of transfusions with platelets. *Blood* 2006; **108**: 3210 - 3215.
- [7] Dijkstra-Tiekstra MJ, Kuipes W, Setroikromo AC, and Wildt-Eggen J. Overnight or fresh buffy coatderived platelet concentrates prepared with various platelet pooling systems. *Transfusion* 2008; **48**: 724 - 730.
- [8] Harrison P, Horton A, Grant D, Briggs C & Machin S J. Immunoplatelet counting: a proposed new reference procedure. *Br J Haematol* 2000; **108**: 228-235.
- [9] Bentley SA, Johnson A & Bishop CA. A parallel evaluation of four automated haematology analysers. *Am J Clin Pathol* 1993; **100**: 626-632.

ROCHE Support

Informativo Científico da Roche Diagnóstica - Ano 1 - Nº 5 - Novembro 2008

Produtos

AVALIAÇÃO DA CONTAGEM AUTOMATIZADA DE PLAQUETAS COMO UM DOS CRITÉRIOS DE QUALIDADE DE HEMOCOMPONENTES EM BANCO DE SANGUE

Matana SR, Sierra PC, Barna GPO*

Laboratório de Controle de Qualidade da Fundação Pró-Sangue;
HEMOCENTRO de São Paulo, SP, Brasil.

* Email: geny@prosangue.sp.gov.br

INTRODUÇÃO

As plaquetas presentes no sangue periférico são formadas pela maturação do megacariócito na medula óssea, em consequência da replicação nuclear por endomitose e do aumento do volume citoplasmático, que se torna granular para posterior liberação das pequenas células [1].

Bizzozero (1882) descreveu as plaquetas como células maduras anucleadas, com a capacidade de se aderirem aos vasos sanguíneos danificados, agregarem-se umas às outras, levando a geração de trombina [2, 3, 4]. Estas ações das plaquetas contribuem com a hemostasia através da formação do tampão plaquetário e, este tampão é reforçado pela ação da trombina na conversão do fibrinogênio em fios de fibrina [4].

No sangue periférico de indivíduos saudáveis, o número de plaquetas está entre 150 - 450 x 10⁹/L, podendo ser modificado em resposta a uma variedade de estímulos [5]. Desta forma, a contagem total de PLT é um importante parâmetro de auxílio ao diagnóstico e tratamento de muitas patologias. Cabe citar que, concentrados de plaquetas (CPs) são usados com frequência na prevenção de eventos de sangramento em pacientes trombocitopênicos ou patologias da medula óssea, devido ao tratamento com drogas citotóxicas [6].

Contudo, a eficácia do tratamento com CPs depende da forma de coleta e acondicionamento deste hemocomponente. No Brasil, um número crescente de Bancos de Sangue vem implementando a técnica de obtenção de concentrados de plaquetas de pool de *buffy coat* (CPBC), pois a qualidade desse

produto é superior aos concentrados de plaquetas obtidos pela centrifugação de plasma rico em plaquetas (CP/PRP), tanto no número de plaquetas não agregadas presentes, quanto na redução de um log no número de leucócitos [7].

Durante muitos anos o método manual desenvolvido por Brecher e Cronkite (1953) foi considerado como padrão de contagem de plaquetas. Mas, com a evolução tecnológica, a contagem de plaquetas também tem sido realizada pelo método automatizado, com sucesso.

Na técnica manual, o sangue coletado com anticoagulante é diluído em uma solução de oxalato de amônia para lise dos eritrócitos, favorecendo a contagem de plaquetas pela microscopia com contraste de fase [2]. Porém, trata-se de uma técnica demorada, subjetiva e com elevados níveis de imprecisão (coeficiente de variação entre 10 a 25%) inter-observadores [8].

Com a introdução da automação para contagem de células do sangue usando o método de impedância elétrica, tornou-se possível quantificar as plaquetas de forma mais precisa (coeficiente de variação < 3%) devido ao grande número de células que são avaliados pelos canais de contagem dos analisadores hematológicos de rotina [9]. A aplicação da impedância elétrica permite diferenciar as células sanguíneas através dos seus respectivos volumes [2].

No presente estudo, nosso objetivo foi avaliar a performance do método automatizado Sysmex XS-1000i na determinação do número de plaquetas obtidas em de Banco de Sangue.

MATERIAIS E MÉTODOS

No Laboratório de Controle de Qualidade do Sangue da Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, foram selecionadas aleatoriamente: 44 CPBCs e 66 CP/PRPs.

Todos os procedimentos de obtenção de plaquetas de sangue total foram realizados de acordo a RDC 153 (14 de junho de 2004 - ANVISA).

Método Manual

Para a realização do método manual de contagens de plaquetas, as amostras foram analisadas em duplicatas após diluição em oxalato de amônio 1% (10µL amostra + 1990 µL oxalato). Posteriormente às diluições, procedemos às contagens usando câmara de Neubauer e microscopia óptica com contraste de fase, considerando 5 campos de observação (2).

Método Automatizado

Nas amostras de plaquetas foi padronizado o volume mínimo de 500µL, sem diluição prévia. As contagens automatizadas foram realizadas pelo sistema de analisador hematológico Sysmex XS 1000i (Sysmex, Kobe, Japão) que utiliza somente 20µL das amostras. Além da técnica de citometria de fluxo com fluorocromo para a análise diferencial de leucócitos, o analisador aplica a técnica de corrente direta (impedância elétrica) para discriminar as plaquetas dos eritrócitos, de acordo com os respectivos volumes celulares. Também são determinados: o volume plaquetário médio (VPM), a distribuição da população de plaquetas (PDW) e a porcentagem de macroplaquetas [platelet large cell ratio (P-LCR %)].

Diariamente, antes das contagens automatizadas das amostras de CPs, as análises dos controles comerciais fornecidos pelo fabricante foram realizadas obedecendo os valores de referência nos três níveis (alto, normal e baixo) de contagem de leucócitos, eritrócitos e plaquetas.

RESULTADOS

Nos CPBCs os resultados mostraram que não houve diferença significativa ($p = 0.9236$) entre as contagens de plaquetas pelo método manual e automatizado (Tabela 1 e Figura 1). Já os métodos apresentaram uma correlação significativa ($r = 0.9392$; $p < 0.00001$) de valores de contagem de plaquetas (Figura 2).

Tabela 1: Descritiva dos valores de plaquetas determinados pelo método manual (média de duas diluições) e automatizado, usando amostras de *buffy coat* de CPs:

	Manual (mm ³)	Automação Sysmex XS1000 (mm ³)
n =	44	44
Mínimo	960.000	824.000
Máximo	2.410.000	2.779.000
Mediana	1.387.500	1.394.000
Média	1.424.886,3	1.430.295,4
SD	244.719,8	300.231,5
Primeiro Quartil (25%)	1.271.250	1.273.500
Terceiro Quartil (75%)	1.528.750	1.489.750

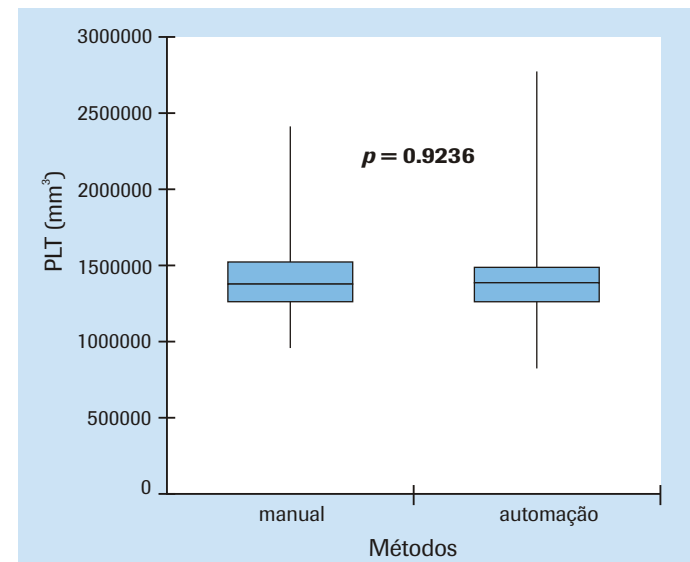


Figura 1: Box plot (mediana e quartil) com a distribuição dos valores de plaquetas determinados pelo método manual e automação, usando *buffy coat* de CPs.

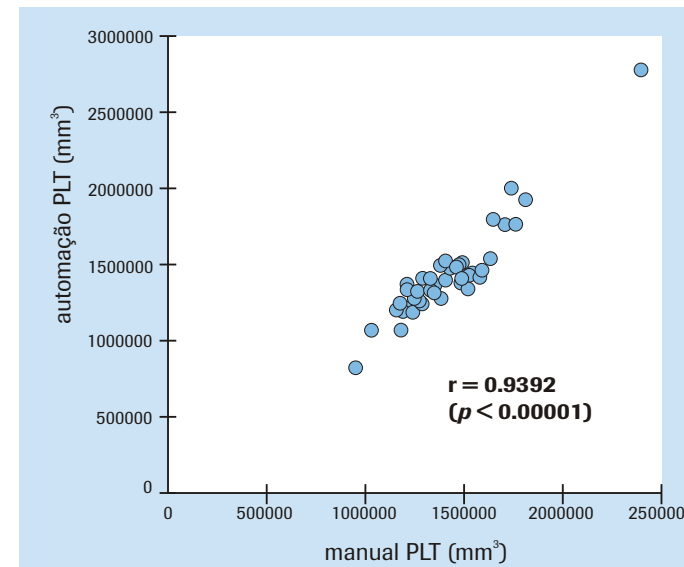


Figura 2: Dispersão das contagens de plaquetas determinadas pelos métodos manual e automatizado Sysmex XS 1000i em amostras de CPBCs.

Nas amostras de CP/PRP, não se observaram diferenças significativas ($p = 0.6198$) nas contagens de plaquetas entre os métodos avaliados (Tabela 2; Figura 3). Os resultados do número de plaquetas pelo método manual mostraram uma correlação significativa ($r = 0.9650$; $p < 0.00001$) com o método automatizado (Figura 4).

Tabela 2: Contagens de plaquetas determinadas pelo método manual (média de duas diluições) e automatizado Sysmex XS 1000i em amostras de CP/PRP.

	Manual (mm ³)	Automação Sysmex XS1000 (mm ³)
n =	66	66
Mínimo	355.000	337.000
Máximo	1.865.000	2.104.000
Mediana	1.010.000	966.500
Média	989.924,2	964.242,4
SD	275.416,2	306.789,8
Primeiro Quartil (25%)	837.500	823.750
Terceiro Quartil (75%)	1.103.750	1.074.500

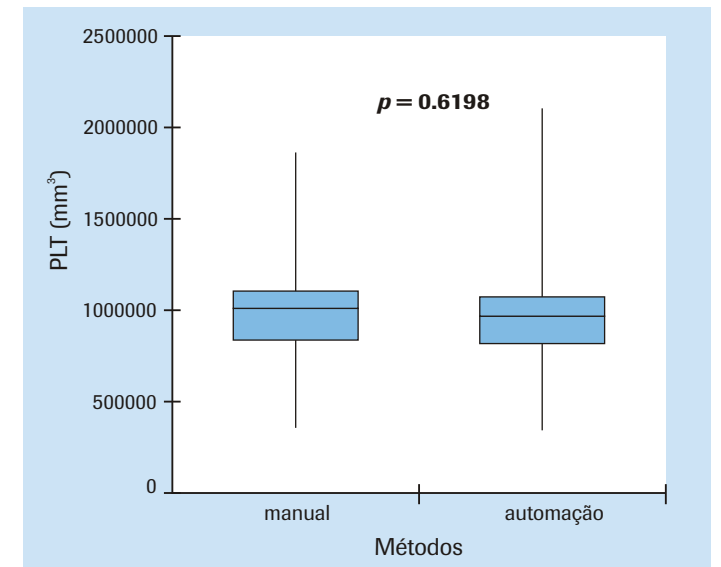


Figura 3: Box plot (mediana e quartil) com a distribuição dos valores de plaquetas determinados pelo método manual e automação, com o uso dos PRPs.

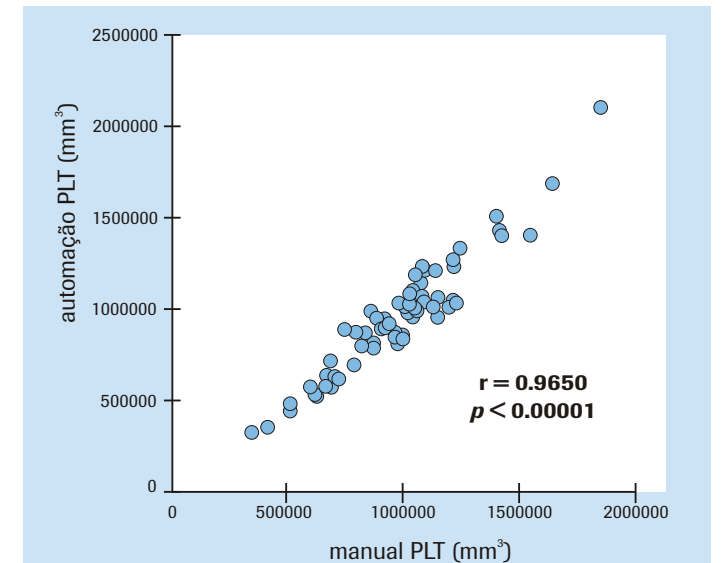


Figura 4: Dispersão das contagens de plaquetas determinadas pelos métodos manual e automatizado Sysmex XS 1000i em amostras de CP/PRP.