



## METODOLOGIA ALTERNATIVA DE CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO NO SETOR DE HEMATOLOGIA DO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO OESTE DO PARANÁ

Alyne Barbosa<sup>1</sup>; Michele Ana Flores Chaves<sup>2</sup>; Marcelo Alessandro Rebecca<sup>2</sup>

**RESUMO:** A necessidade de segurança dos resultados na determinação de constituintes biológicos num laboratório clínico determina a adoção de sistemas eficientes de controles que permitam confiabilidade nos resultados. Devido a importância do hemograma dentro do estabelecimento do diagnóstico e prognóstico torna-se evidente controlar a qualidade de seus resultados. Sendo assim, o trabalho propôs uma metodologia alternativa para o controle de qualidade interno no setor de Hematologia do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), visando o emprego de uma metodologia de fácil operação e baixo custo envolvendo os equipamentos utilizados na rotina do laboratório. Foram utilizados para este estudo amostras de sangue venoso de indivíduos internados no HUOP. O hemograma foi processado em contador de células automatizado. Imediatamente após o processamento das amostras, estas foram acondicionadas sob refrigeração a 4°C. Após 24, 48 e 72 horas de refrigeração, as amostras foram re-processadas no mesmo contador de células, visando estabelecer a preservação dos parâmetros hematológicos. Os resultados das contagens dos elementos celulares após 24 horas são aceitáveis, pois não foram estatisticamente diferentes daqueles do material original (imediatamente após a coleta), pois o sangue não sofre grandes transformações. Entretanto os resultados dos hemogramas após 24, 48 e 72 horas, foram considerados inadequados devido a mudanças no estado geral de sua composição. Nossos resultados demonstram que a refrigeração da amostra de sangue utilizada para realização do hemograma pode ser usada como parâmetro para calibração do aparelho e confiabilidade do resultado emitido, sendo uma alternativa viável, econômica e confiável.

**PALAVRAS-CHAVE:** Controle de Qualidade Interno; Hemograma; Preservação de células.

### 1. INTRODUÇÃO

O sangue é o líquido corporal mais utilizado para fins analíticos. Os testes sanguíneos são, em sua maioria, para estabelecer um diagnóstico, excluir algum problema clínico, monitorizar tratamento, estabelecer um prognóstico, fazer triagem de doença, determinar a posologia eficaz de um medicamento e evitar toxicidade (LEE, *et al*, 1999; STIENEMARTIN *et al.*, 1998).

A análise laboratorial visa à obtenção de resultados compatíveis com a metodologia empregada. A necessidade de segurança dos resultados obtidos na determinação de constituintes biológicos no laboratório clínico determina a adoção e o desenvolvimento de sistemas eficientes de controles que permitam confiabilidade nos resultados (MOTTA, 2003). Para alcançar esses objetivos é necessário que se mantenha um programa de Garantia da Qualidade e que o mesmo contenha fundamentos na hora de se fazer um exame como procedimentos pré-analíticos, que inclui a preparação do paciente, coleta,

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso de Especialização em Análises Clínicas – UNIOESTE, Cascavel - Pr

<sup>2</sup> Docentes do Curso de Farmácia – UNIOESTE, Cascavel - Pr

transporte, conservação e preparação da amostra; procedimentos analíticos, que incluem os mecanismos para a validação dos resultados obtidos, além da exatidão, precisão, especificidade, sensibilidade dos exames e a segurança da metodologia empregada; procedimentos pós-analíticos, que inclui a revisão da congruência dos resultados obtidos, organização e armazenamento dos dados. Existem basicamente duas formas de monitoramento do Controle de Qualidade Total:

- Controle de Qualidade Externo (CQE) - controle interlaboratório – determinação do desempenho dos exames laboratoriais através de comparações interlaboratoriais. Tem por objetivo assegurar que os resultados laboratoriais cheguem o mais próximo possível do valor real dos analitos analisados (MOTTA, 2003);

- Controle de Qualidade Interno (CQI) - controle intralaboratório – procedimentos conduzidos em associação com os exames das amostras do paciente para avaliar se o sistema analítico esta operando dentro dos limites de tolerância pré-definidos. Tem por objetivo assegurar um funcionamento confiável e eficiente dos procedimentos laboratoriais fornecendo resultados válidos em tempo útil (MOTTA, 2003);

Amostras controles comerciais para as determinações hematológicas não eram viáveis até que os primeiros analisadores hematológicos automatizados fossem introduzidos, nos anos 60-70. Nessa época também surgiu o ICSH - *International Council for Standardization in Haematology*, para determinar a padronização em Hematologia. Pelo fato das determinações hematológicas envolverem componentes celulares vivos e facilmente instáveis, viu-se necessário estudos que padronizassem a obtenção de amostras controle comerciais estáveis para a hematologia (STIENE-MARTIN *et al.*, 1998).

Algumas vezes, os profissionais que executam as análises clínicas encontram dificuldades em seguir as normas para os programas de controle de qualidade interno ou externo, pois em alguns casos os programas são caros, complexos e até mesmo impraticáveis (HOWANITZ *et al.* 1997). Assim é necessário que profissionais escolham programas de controle de qualidade simples e adaptáveis à sua rotina laboratorial.

O objetivo deste trabalho foi testar uma metodologia de baixo custo para controle de qualidade interno no setor de Hematologia do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), visando uma alternativa ao material controle padronizado pelo fabricante do contador de células automatizado Cell-dyn 3200® (Abott).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O material clínico utilizado para a realização do presente estudo compreendeu os dados provenientes do banco de dados do laboratório do HUOP e as amostras de sangue coletadas para confecção do hemograma. Os hemogramas foram realizados com amostras de sangue venoso coletadas em presença de anticoagulante etilenodiaminotetracético tripotássico (EDTA K<sub>3</sub>), de acordo com a padronização do setor de Hematologia do Laboratório de Análises Clínicas, dos indivíduos que são atendidos no Pronto Socorro e indivíduos internados no HUOP.

As amostras foram homogeneizadas por cinco minutos em homogeneizador hematológico (Phoenix A22). Em seguida, foram introduzidas em aparelho contador de células automatizado (Cell-Dyn 3200 C5/SL, fabricante Abott Laboratories USA- 1997), em triplicata, que forneceu a contagem diferencial de leucócitos, eritrócitos e plaquetas, concentração de hemoglobina, valores do hematócrito e RDW (red cell distribution width), além dos índices hematimétricos (VCM - Volume Corpuscular Médio; HCM - Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média). O hemograma foi completado pela análise do esfregaço sanguíneo, onde foram realizadas

a análise morfológica de leucócitos, eritrócitos e plaquetas e a contagem diferencial de leucócitos.

Imediatamente após o processamento das amostras, as mesmas foram acondicionadas sob refrigeração de 4°C em refrigerador (Brastemp 340L). Após 24, 48 e 72 horas de refrigeração, as amostras foram re-processadas em triplicata no mesmo contador de células automatizado, visando estabelecer a preservação dos parâmetros hematológicos. O número de hemogramas analisados diariamente foi de cinco amostras (n=5) durante cinco dias. Os hemogramas analisados independeram de sexo e a faixa etária foi pacientes maiores de 18 e menores de 65 anos.

A análise estatística foi realizada através da análise da variância e teste de *t* de Student's. O limite máximo de significância considerado foi de 5% (p<0,05).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 225 amostras avaliadas no período de 05 a 11 de novembro de 2006, verificou-se que os dados analisados pelo ANOVA (análise de variância) e através do teste *t* de Student's, não foram estatisticamente diferentes nas primeiras 24 horas daqueles do material original (imediatamente após a coleta). Entretanto os resultados dos hemogramas após 24, 48 e 72 horas sob refrigeração foram considerados inadequados devido a mudanças no estado geral de sua composição. Os dados estão relacionados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Resultado dos hemogramas durante a preservação a 4°C

| Tempo                        | Eritrócitos**<br>(x 10 <sup>12</sup> /L) | Hemoglobina**<br>(g/dL) | Hematócrito**<br>(%) | VCM**<br>(fL) | HCM**<br>(pg)L | CHCM**<br>(%) | Leucócitos**<br>(x 10 <sup>9</sup> /L) | Plaquetas**<br>(x 10 <sup>9</sup> /L) |
|------------------------------|--|-------------------------|----------------------|---------------|----------------|---------------|--|---------------------------------------|
| Imediatamente após a coleta* | 4,43                                     | 13,2                    | 39,1                 | 88,2          | 29,8           | 33,8          | 9,23                                   | 135                                   |
| 24 hs                        | 4,3<br>± 0,005                           | 13,1<br>± 0,25          | 39,2<br>± 0,045      | 91,1          | 30,4           | 33,4          | 9,02<br>± 0,024                        | 130<br>± 0,40                         |
| 48 hs                        | 3,8<br>± 0,05                            | 12<br>± 0,95            | 43,1<br>± 1,35       | 113           | 31,5           | 27,8          | 7,02<br>± 1,17                         | 112<br>± 3,05                         |
| 72 hs                        | 3,1<br>± 0,35                            | 11,2<br>± 0,65          | 48<br>± 1,75         | 154           | 36,1           | 23,3          | 5,6<br>± 1,66                          | 103<br>± 4,9                          |

\* material original

\*\* valores médios de análises automatizadas em triplicata

Média ± desvio padrão

VCM – Volume Corpuscular Médio

HCM – Hemoglobina Corpuscular Média

CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

Tabela 2. Variação média dos parâmetros nas contagens celulares originais e após 24 horas sob refrigeração a 4°C

| Parâmetro                           | Material Original | Coefficiente de Variação | Significância Estatística |
|-------------------------------------|-------------------|--------------------------|---------------------------|
| Eritrócitos (x 10 <sup>12</sup> /L) | 4,88              | 0.2                      | NS                        |
| Hemoglobina (g/dL)                  | 13,5              | 0.5                      | NS                        |
| Hematócrito (%)                     | 42,7              | 0.7                      | NS                        |
| Leucócitos (x 10 <sup>9</sup> /L)   | 6,10              | 1.7                      | NS                        |
| Plaquetas (x 10 <sup>9</sup> /L)    | 198               | 3.5                      | NS                        |
| VCM (fL)                            | 87,4              | 0.7                      | NS                        |
| HCM (pg)                            | 27,7              | 0.7                      | NS                        |
| CHCM (%)                            | 31,7              | 0.7                      | NS                        |

NS – Não significativo

V EPCC

CESUMAR – Centro Universitário de Maringá  
Maringá – Paraná – Brasil

A Tabela 1 exibe os dados dos resultados dos hemogramas imediatamente após a coleta e processamento do hemograma no aparelho automatizado, após 24, 48 e 72 horas sob refrigeração. Os resultados das contagens dos elementos celulares após 24 horas são aceitáveis, pois o sangue não sofre grandes transformações. A temperatura de armazenamento dos eritrócitos e das plaquetas preservados entre 2 e 8 °C reduz o metabolismo das células em aproximadamente 40 vezes, reduzindo danos metabólicos e mantendo as funções de membrana. Mesmo assim, durante a refrigeração, o pH vai diminuindo lentamente devido à formação de ácido láctico (HÖGMAN, 1998). Após este tempo, observam-se algumas variações que podem ser devido à agregação de plaquetas e leucócitos. Segundo LEONART (1986), após 24 horas de refrigeração algumas enzimas leucocitárias, na ausência de concentrações adequadas de inibidores plasmáticos de proteases, são capazes de agir sobre a membrana dos eritrócitos ocasionando a liberação de potássio e conseqüentemente a hemólise. Observou-se também que o aumento do volume dos eritrócitos é significativo e pode ser devido à entrada de sódio e água para o interior da célula vermelha, o qual ocorre através do decréscimo da atividade da bomba sódio-potássio (Na-K ATPase) (FINK *et. al.*, 1978; ISHIHARA *et. al.*, 1987;). Outro efeito marcante que foi observado após 48 e 72 horas foi à formação de metahemoglobina e acúmulo de lactato devido à glicólise, o qual não somente diminui o pH sanguíneo como também produz um efeito osmótico. Este efeito osmótico também pode estar relacionado com a diminuição da concentração de 2,3 difosfoglicerato (2,3-DPG) devido à substituição do 2,3-DPG por íons cloro. Com relação à morfologia, a depleção de ATP conduz também a transformação do eritrócito, que passa de discócito para esferoequinócito. Estudos realizados por SIEBERS & MALING (1988), verificaram que para as determinações hematimétricas as dificuldades aumentam, pois o sangue quando a 4°C com os anticoagulantes usuais é estável apenas por 1 a 2 dias, fato que foi confirmados pelos nossos dados.

A aplicação de uma análise estatística neste trabalho teve a finalidade de verificar e apontar possíveis erros de calibração do aparelho Cell-Dyn 3200 C5/SL, observando-se a variabilidade dos resultados apresentados. Foi levado em consideração cada resultado obtido da fase analítica, além dos dados da fase pré-analítica como coleta, sexo, idade, variações fisiológicas, gravidez entre outros.

Os resultados desta análise mantiveram-se dentro da margem de erro esperada mesmo existindo um Controle de Qualidade Interno no laboratório HUOP, porém, a implantação de um sistema alternativo não é dispensável, visto que erros de qualquer espécie podem se tornar sistemáticos e acabar por comprometer a qualidade das análises realizadas.

#### **4. CONCLUSÃO**

Devido à importância que o exame do hemograma representa nos Laboratórios de Análise Clínicas e mesmo dentro do estabelecimento do diagnóstico e prognóstico do paciente, torna-se evidente controlar a qualidade de seus resultados visto que, observou-se que dentro das vinte e quatro horas subseqüentes à coleta do hemograma, se refrigerado a 4°C imediatamente após o processamento da amostra, os valores das contagens celulares desta amostra apresentam-se semelhantes, podendo ser usada como parâmetro para calibração do aparelho e confiabilidade do resultado emitido, sendo assim uma alternativa viável, mais econômica e confiável para manutenção do controle de qualidade interno do setor de Hematologia do Laboratório de Análises Clínicas do HUOP.

## REFERÊNCIAS

- FINK N. E.; ALBERT, A. F.; CRISPINI, I.; CABUTTI, N.V.; MAZIOTTA, D. Evaluation and additional recommendations for preparing a whole blood control material. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 32, nº2 p.107-111,1998.
- HÖGMAN, C. F.; Preparation and Preservation for Red Cells. **Vox Sanguinis**, Bassel, v. 74, nº2, p. 177-187, 1998.
- HOWANITZ, P.J.; JONES, B.A.; CALAM, R.R. Chemistry specimen acceptability: a College of American Pathologists Q-Probes study of 453 laboratories. **Arch. Pathol. Lab. Med.** v.121, n.1, p.19-26. 1997.
- ISHIHARA, T.; SANO, J.; YAMANAMI, S. Foamy cells associated with phagocytosis of glutaraldeide treated red blood cells and red cells membranes. **Acta Pathologies Japanese**, v. 37, p. 627-637, 1987.
- LEE, G. R.; FOERSTER, J.; LUKENS, J. PARASKEVAS, F.; GREER, J.P.; RODGERS, G. M. **Wintrobe's Clinical Hematology**. 10 ed. Baltimore: Lippincott William's & Wilkins, 1999.
- LEONART, M.S.S. GRANATO, E. S.; NASCIMENTO, A.J.; HASHIMOTO, Y.; LEONART, R. Solução preservadora de eritrócitos para controle da qualidade do eritrograma. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 18, p. 7-12, 1986.
- MOTTA T., Valter **Bioquímica Clínica para o Laboratório: Princípios e interpretações**. 4 ed. Editora Médica Missau, 2003.
- SIEBERS, R.W.L.; MALING, T.J.B. Whole blood storage solution for erythrocytes sodium-lithium and sodium lithium countertransport rate determination. **Clinical Chimica Acta**, Amsterdam, v. 172, p. 239-244, 1988
- STIENE-MARTIN, E.A.; LOTSPETCH-STEININGER, C.A; KOEPCKE, J.A. **Clinical Hematology: principles, procedures, correlations** 2 ed. Philadelphia: Lippincott, 1998.