

PRINCIPAIS PROBLEMAS OBSERVADOS NAS DETERMINAÇÕES HEMATOLÓGICAS NO LABORATÓRIO CLÍNICO

PREPARAÇÃO, COLORAÇÃO E OBSERVAÇÃO DAS LÂMINAS.

1 – Quais os principais cuidados que devem ser tomados para a confecção e coloração de lâminas de hematologia?

- Lâminas de boa qualidade
- Coloração adequada. (Wright, Giemsa, May-Gruenwald).
- Os corantes devem estar isentos de contaminação por água – pode causar precipitação.
- A solução de lavagem deve ser tamponada (pH 6,4 a 7.2). Oferece melhor definição dos detalhes.
- Os tempos de fixação e de coloração devem ser determinados em cada laboratório e rigorosamente obedecidos.
- A contagem deve ser sempre realizada em objetiva de imersão.

2 – Existe alguma regra para identificação dos diversos tipos leucocitários?

O exame morfológico deve ser conduzido de modo sistemático observando os parâmetros morfológicos abaixo.

- Tamanho da célula – comparando com o tamanho das hemácias.
- Forma da célula.
- Forma e tamanho do núcleo.
- Aspecto do citoplasma.
- Estruturas citoplasmáticas.
- Relação núcleo/citoplasma.

3 – Como fazer o controle de qualidade interno das contagens diferenciais?

- As hemácias devem ser observadas em áreas sem sobreposição de células.
- Correlação da morfologia eritrocitária com os índices hematimétricos.
- Correlação do número de leucócitos e plaquetas com as contagens obtidas.
- A distribuição das células na preparação deve ser avaliada da seguinte maneira → 10 a 30 leucócitos/ campo (em aumento de 10x) e 10 a 15 plaquetas / campo (em aumento de 40x).
- A preparação e a coloração devem ser avaliadas regularmente por profissionais habilitados dentro e fora do laboratório.

4 – Quais os principais cuidados com a contagem de reticulócitos?

- Respeitar o tempo de ação do corante supra vital.
- Confecção da lâmina cuidando para que haja boa distribuição das células.
- Evitar a confusão com outras inclusões eritrocitárias (corpos de Heinz, Howell-Jolly, Hb H etc).
- Evitar o armazenamento do material em temperatura superior a 20° C.

5 – Quais as principais alterações morfológicas causadas pelo anticoagulante EDTA?

- Até 1 hora → sem alterações.
- 1 – 3 horas → algumas alterações.
- 8 – 12 horas → alterações importantes.

- Intensificação da coloração do núcleo dos leucócitos.
- Alteração da lobulação nuclear principalmente de monócitos e segmentados.
- Citoplasma sem definição e vacuolado também em monócitos e segmentados.
- Poucas alterações nas hemácias até 6 horas da coleta.

6 – Quais as alterações laboratoriais causadas pelo armazenamento da amostra?

Efeitos quantitativos.

- Aumento do volume das hemácias, do Ht e do VGM.
- Aumento do TAP e da fragilidade osmótica.
- Diminuição do VHS.
- Leucometria e plaquetometria diminuem.
- Reticulócitos diminuem após 6 h.
- Sem alterações no Ht e no VGM se conservado a 4°C até 24h.
- Hemoglobina estável por dias.

7 - Em que situações as alterações da série vermelha devem ser destacadas no laudo hematológico?

- As observações no laudo hematológico devem ser feitas sempre baseadas no aspecto morfológico das células. Por exemplo, um valor de VGM normal significa que o valor médio do volume celular é normal. Este fato não exclui a possibilidade de serem observadas hemácias microcíticas ou macrocíticas durante a hematoscopia, as quais devem ser citadas apesar do índice normal.

8 – Como relatar a presença de linfócitos atípicos observados na hematoscopia?

- Esta alteração leucocitária deve ser comentada na hematoscopia considerando-se a idade do paciente e a frequência de células que são encontradas no exame. Infelizmente não existe uma norma para expressar este tipo de alteração, mas de uma forma geral admite-se que a observação no laudo hematológico deve ser feita quando 20 a 30% de células atípicas forem observadas na preparação.

TESTES DE COAGULAÇÃO.

9 – Como fazer controle interno de tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial?

Um pool de plasmas normais pode ser preparado no laboratório e usado, com grandes benefícios, para controle interno da qualidade.

Preparação do pool de plasmas.

- Colher amostras de pelo menos cinco indivíduos sem história de sangramento.
- Os voluntários devem ser preferencialmente do sexo masculino.
- Centrifugar o plasma até que as plaquetas estejam totalmente precipitadas.
- Realizar o TP e o TTP de cada uma das amostras individualmente.
- Se os resultados forem normais misturar os plasmas e repetir os testes.
- Se alguma das amostras não estiver normal, esta deve ser substituída por outra com resultados normais.
- Dividir em alíquotas de 1 ml e conservar em congelador.
- As alíquotas podem ser utilizadas com segurança por cerca de 30 dias.

10 – Quais as principais causas de erro nestes testes?

- Volume da amostra superior ou inferior ao volume de anticoagulante do tubo de coleta.
- Hematócrito muito baixo ou muito alto, levando a uma relação anticoagulante / amostra inadequada.
- Anticoagulante incorreto ou em concentração errada.
- O anticoagulante de eleição é o citrato de sódio (0,109M) na proporção de 1:9.
- Formação de coágulos parciais durante a coleta, icterícia ou lipemia.
- Contaminação da amostra por heparina (catéter).

11 – Como a coleta pode interferir nos valores dos testes?

- Realizar coleta “limpa” com agulha de calibre apropriado, seringas plásticas ou tubos siliconizados.
- O anticoagulante de eleição é o citrato de sódio (0,109M) 1:9.
- A temperatura ideal de armazenamento dos frascos de coleta é de 20 a 24°C.
- O tubo destinado a estes testes deve ser o último a ser colhido.
- Coleta de sangue venoso sem garrote para evitar a hemoconcentração que pode causar o aumento da atividade fibrinolítica, e a ativação e liberação de fatores plaquetários.

12 – Quais as principais causas de erro relacionadas à amostra?

- Contaminação dos reagentes.
- Reconstituição com volume ou diluente incorreto.
- Problemas no transporte ou armazenamento dos reagentes, principalmente em relação a temperatura.
- Armazenamento das amostras em temperatura adequada, geladeiras 4°C ± 2 para geladeiras e -20°C ± 2 para os freezers.

13 – Quais os principais cuidados analíticos?

- Pipetagem, evitar o “splash” no momento da pipetagem.
- Os banhos-maria devem estar ajustados a 37°C ± 1,0.
- Os tempos de incubação ou ativação devem ser respeitados rigorosamente.
- A concentração do Cloreto de Cálcio (0,025mol/l), usado no tempo de tromboplastina parcial.

14 – Existem recomendações gerais em relação aos procedimentos laboratoriais usados em testes de coagulação?

- O coeficiente de variação (CV) deve ser menor que 5% num mesmo lote de plasmas normais ou anormais.
- O plasma e os reagentes devem ser pré-aquecidos de 3 a 10 minutos.
- O tempo de contato entre o plasma e o reagente do TTP deve ser rigorosamente obedecido.
- A sensibilidade ao uso de heparina deve ser estabelecida em cada laboratório determinando-se os valores do TTP correspondentes a uma determinada dose da droga.

CAUSAS DE ERRO NO HEMOGRAMA

15 – Quais as principais causas de erro da dosagem de hemoglobina?

- Amostra de sangue capilar (fluido tecidual pode diluir a amostra).
- Sedimentação durante a armazenagem.
- Agitação vigorosa.
- Erros na calibração dos instrumentos.
- Deterioração dos reagentes, manter ao abrigo da luz.
- Leucometrias superiores a $50 \times 10^9/l$.
- Plasma lipêmico.

16 - Quais as principais causas de erro da determinação do hematócrito?

- Erro de leitura.
- Tubos inadequados.
- Concentração de anticoagulante.
- Presença de micro-coágulos. (erro para menos)
- Falta de homogeneização.
- Hemólise (temp. da centrífuga, coleta inadequada). (erro para menos)
- Vazamento do tubo.
- Armazenamento da amostra (aumento do VGM). (erro para mais)
- Leitura do menisco (leucocitose ou hiperplaquetemia).
- Centrifugação (tempo ou força de centrifugação).

17 – Quais as principais causas de erro na contagem de hemácias?

Contador automatizado .

- Sedimentação durante o armazenamento.
- Quantidade de anticoagulante insuficiente levando à formação de pequenos coágulos.
- Bloqueio da abertura do tubo de contagem.
- Deterioração das hemácias (demora na contagem).
- Contagem coincidente causada por amostras muito concentradas.
- “Background” do diluente.
- Fragmentos celulares.
- Intensa microcitose (contagem subestimada).

18 – Quais as principais causas de erro na contagem de leucócitos?

Contador automatizado / método manual (WHO/ICSH).

- Hemólise insuficiente (automatizada).
- Presença de eritroblastos (automatizada).

- Temperatura e homogeneização(automatizada).
- Bolhas de ar, lamínula, sedimentação, distribuição, diluição, destruição (manual).
- Câmara suja, leucopenia (manual).

19 – Quais as principais causas de erro na contagem de plaquetas?

Contador automatizado / método manual (WHO/ICSH).

- Erros semelhantes aos observados nas contagens de hemácias e leucócitos.
- A contagem deve ser realizada preferencialmente dentro das três primeiras horas após a coleta.
- Presença de micro-coágulos.
- O diluente deve ser livre de contaminação.

20 – Quais os coeficientes de variação obtidos nos métodos manual e automatizado na determinação dos índices hematimétricos?

Coeficientes de variação (CV)

	Manual	Automatizado
VGM	10%	3,2%
HGM	10%	3,6%
CHGM	-	1,5%

Referências Bibliográficas:

- NCCLS H2I A-3 – Coleta, transporte de amostras em testes de coagulação;
- referentes aos analitos do hemograma.
- Wintrobe – Hematologia Clínica – Ed. Manole, 9ª Edição.
- Who/LAB 98-4 – Segurança da Qualidade em Hematologia

Resumo preparado pela Assessoria Científica do PNCQ