



## **PÓS-GRADUAÇÃO EM HEMATOLOGIA CLÍNICA E LABORATORIAL**

**Deborah Fernandes Rodrigues**

### **A importância do hemograma no laboratório clínico e interferências nos fatores pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos.**

Artigo apresentado como trabalho de conclusão de curso no curso de Pós-Graduação em Hematologia Clínica e Laboratorial pela Academia de Ciência e Tecnologia.

**São José do Rio Preto - SP  
2023**

## **AGRADECIMENTO**

Primeiramente, agradeço à Deus por ter me sustentado até aqui e não ter me deixado desistir em meio as adversidades.

Dedico este trabalho a minha família, minha base e alicerce, meus pais Paulo Sérgio e Sandra, as minhas queridas irmãs Hellen e Jamily, que sempre me apoiaram na busca constante de meus objetivos, ao meu companheiro e noivo Wilson pela paciência, meu cunhado Walter e sobrinho Miguel que são meu afago. As minhas companheiras e plantonistas de serviço que sempre me apoiaram para conseguir a realização de um sonho, em especial à Mayra Augusta Tambara, que me fez resgatar um sonho quase adormecido e nunca mediu esforços para me incentivar e sempre dizia “é possível”, obrigada por resgatar a mim essa vontade de ir além. Ao suporte dado pelo meu chefe Rodiney Sanches por entender minha ausência em dias de aula e apoio diário; a Brizza Larrayne que, inicialmente na minha jornada de trabalho abriu espaço no setor da hematologia, sempre me dando todo suporte à prática; e a todos os amigos que fiz nesse caminho. Agradeço também ao conhecimento magnífico e experiência incrível cedida por essa Instituição de Ensino Naoum, um período enriquecedor.

Fica à memória de meu bravo e aguerrido avô Sr. Valdemar Fernandes que sempre me deu os maiores exemplos de luta pela vida, diagnosticado em 2019, no hemograma de rotina com Leucemia Mielóide Crônica, o qual foi perseverante até o fim.

## **RESUMO**

O hemograma sendo um dos exames laboratoriais mais importantes na medicina diagnóstica, visa detalhes e tão logo consequências que são fornecidas através de uma única amostra de sangue, sendo solicitado tanto em rotina quanto em urgências médicas. A partir disso, são compreendidas fases indispensáveis que influenciam no resultado final do laudo do paciente. Apontada em diversos estudos, a fase pré-analítica é a grande responsável pelos erros laboratoriais, já que esta fase é a mais suscetível devido a maioria dos processos não serem automatizados, envolvendo atenção e atividades manuais que requerem treinamento constante de equipe, focados a gerar qualidade, confiabilidade e segurança nos resultados às decisões médicas. Fazendo-se necessário implementar atividades e recursos que visem à educação continuada de todos os profissionais envolvidos nos processos de obtenção e manipulação de amostras biológicas, corrigindo desta maneira falhas e variáveis relacionadas à fase pré-analítica, como exemplo, o preparo do paciente, momento da coleta e identificação de amostras biológicas, como também a fase analítica e pós-analítica, tendo o cuidado e sempre fortalecendo o conjunto desses fatores para o tratamento adequado e ímpar com a vida de cada paciente, através da sua amostra sanguínea.

**PALAVRAS CHAVE:** Hemograma, intercorrências, qualidade, diagnóstico, pré-analítico, pós-analítico.

## **ANÁLISE LITERÁRIA**

O hemograma corresponde a um conjunto de testes laboratoriais que estabelece os aspectos quantitativos e qualitativos dos eritrócitos (eritrograma), dos leucócitos (leucograma) e das plaquetas (plaquetograma) no sangue (OLIVEIRA, 2007). Exame mais solicitado pelos médicos, que fornece informações muito importantes, de modo geral, sobre o estado de saúde do indivíduo, que podem ajudar a diagnosticar patologias como processos infecciosos, leucemias, e vários outros distúrbios hematológicos como as anemias, policitemias e talassemias (ROSENFELD, et al., 2019). O processo de realização do exame passa por três fases importantes: pré-analítica, analítica e pós-analítica, etapas importantes e essenciais para a confiabilidade do resultado. A maioria dos erros ocorre nas fases pré e pós-analítica, pois, na maioria das vezes, estas fases não dependem ou não estão totalmente sob o controle do laboratório. Essas fases devem ser continuamente monitoradas (SANTOS, 2013).

Define-se como fase pré-analítica todos os processos que antecedem ao processamento das amostras, desde o preparo do paciente até a coleta, manuseio e preparação das amostras. Deve-se sempre ter uma boa orientação aos pacientes, treinamento das equipes de atendimento e coleta, boa seleção de insumos e controles de processos eficientes, englobando todas as atividades realizadas antes da determinação analítica (CONTROLLAB, 2007). A fase analítica é inicializada com a validação de todo o sistema analítico, passando pelo controle de qualidade interno e se encerra quando a determinação analítica gera um resultado. A fase pós-analítica inicia-se após a geração do resultado analítico, quantitativo e/ou qualitativo, sendo finalizada após a entrega do laudo e interpretação do resultado (SILVA, 2016).

Estudos indicam que aproximadamente 40 a 70% dos erros ocorrem na fase pré-analítica (MELO; SILVEIRA, 2015). Em consequência disso para a identificação das principais fontes de erro dentro do laboratório clínico é primordial conhecer as etapas envolvidas no processo da fase pré-analítica, evitando comprometer o diagnóstico do paciente e futuras condutas clínicas (RIN, 2010).

Deve-se ter atenção na solicitação do exame, ao pedido médico, cadastramento (com erros no nome do paciente), idade, sexo, cor, profissão, dados clínicos e ao uso de medicações, principalmente. É de grande impacto e inaceitável procedimentos errados de coleta que causaram algum tipo de interferente na análise, como exemplo: massagem no local da punção onde ocasiona redução da contagem de células de até 5%; garrote prolongado, acima de 1 minuto, que produz elevação do hematócrito em 4 a 6%. Estado emocional do paciente, estresse, choro que se tem maior secreção de adrenalina com consequente elevação do número de neutrófilos pela liberação do *pool* marginal (SANTOS, 2013).

Aos pacientes tabagistas, o hábito de fumar pode afetar a eritropoese, elevando o número de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito; provoca também o aumento das contagens leucocitárias por conta da neutrofilia e monocitose, sendo que essas alterações podem persistir por meses após a suspensão de seu uso. Esse achado é importante quando são realizados hemogramas rotineiramente (MARTINHO, 2012) também pode causar hiperagregabilidade e reduzir a sobrevivência das plaquetas. Coleta após exercício prolongado há elevação no valor dos eritrócitos, hemoglobina, e leucócitos, pela saída de plasma vascular durante o exercício e pela entrada de células do *pool* marginal. Para os pacientes que chegam ao laboratório ofegantes, após rápida caminhada ou subida de rampas ou escadas, é preciso orientar e realizar a coleta após 30 minutos de repouso (SANTOS, 2013).

Segundo a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), Organização Mundial da Saúde (OMS) e Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), para assegurar uma boa qualidade e evitar contaminação das amostras por metais ou anticoagulantes presentes, sugere-se uma ordem específica para coleta em tubos a vácuo, sendo: citrato de sódio (azul-claro), soro com ou sem ativador de coágulo (vermelho), heparina (verde), EDTA (roxo), fluoreto (cinza).

A coleta de sangue deve ser padronizada já que a punção, o uso do anticoagulante adequado, e a correta homogeneização da amostra após ser transferida para o tubo precisam de atenção afim de evitar resultados errôneos. A punção sanguínea pode ser realizada pelo sistema à vácuo e por seringa e

agulha, homogeneizar gentilmente por inversão durante 8 a 10 vezes, garantindo a completa solubilização do anticoagulante e a correta anticoagulação da amostra. Amostras com volume menor do que o volume requerido do tubo ou visivelmente hemolisadas não devem ser processadas (SILVA; et al, 2016). A primeira pode conter alterações celulares causadas pelo anticoagulante a coleta de pequeno volume de sangue, em tubo com EDTA, pela sobra de anticoagulante (sal), EDTA em excesso, pode desidratar os eritrócitos (crenados) causando diminuição do hematócrito e do volume corpuscular médio (VCM), ocasionando a lise de leucócitos e eritrócitos. A proporção de EDTA do tubo é de 1 a 1,5 ml para cada ml de sangue. Tubos com validade vencida são de uso proibido: perda do vácuo, possibilidade de contaminação por microorganismos e formação de coágulos. A hemólise pode acontecer em consequência da agulha de calibre pequeno aspiração muito rápida quando realizada com seringa perda da veia durante a coleta; homogeneização brusca, longo período de armazenamento em temperatura inadequada e congelamento de amostra (SANTOS, 2013) e a última, ser reflexo de uma coleta traumática. Caso isso não seja valorizado e realizado no momento da coleta, a amostra é perdida. Essa aplicação e atitude deve-se ser comumente reforçado em faculdades, estágios e treinamentos para todo profissional da área médica.

A lipemia e a hemólise causam aumento do CHCM. Ambas devem ser pesquisadas pela centrifugação do sangue e inspeção do plasma. O sangue com aumento do CHCM na presença de aglutinação de hemácias deve ser reanalisado após aquecimento da amostra. O sangue com resultados muito elevados, acima do intervalo de linearidade, deve ser reanalisado com menor diluição necessária para obtenção de um resultado dentro da linearidade. (ROSENFELD, 2007). Existem técnicas manuais para a correção do eritrograma para lipemia, uma delas é um procedimento não seguro, pois requer boa habilidade na troca do plasma hiperlipêmico por solução fisiológica. Em uma alíquota da amostra, após prévia diluição em NaCl a 0,9%, pode ser feita cuidadosamente troca de boa parte do plasma lipêmico (obtido após centrifugação de 5 minutos a 2.000 rpm) por quantidade exatamente igual de solução fisiológica (NaCl a 0,9%), homogeneização e posterior passagem da amostra no contador (OLIVEIRA, 2007).

Também destacamos a hemodiluição da amostra causada por coleta de acesso, em que vemos profissionais querendo driblar o processo devido a coletas difíceis, se tornando um grande pesadelo caso não haja um profissional capacitado dentro do laboratório clínico para perceber a prática incorreta, dificultando o resultado e gerando recoletas imprecisas ou até mesmo tornando a conduta médica gravemente comprometida com total discrepância e desproporcionalidade a clínica do paciente, levando a um descontentamento e aversão do médico com o laboratório.

A maioria das plaquetopenias espúrias é proveniente de coletas inadequadas, sendo assim podemos detectar e corrigir os erros nas contagens de plaquetas (falsas plaquetopenias). Assim todas as plaquetopenias obtidas em contadores merecem análise do esfregaço de sangue para comparação de resultados, observação de possíveis agregados plaquetários ou excesso de macroplaquetas. O coletor de sangue tem por obrigação sinalizar e relatar coletas demoradas ou traumáticas. Além disso, também acontece quando a agulha demora atingir a luz do vaso, quando há deterioração de EDTA, pelo uso de tubos com prazos de validade vencidos, pela demora na homogeneização do tubo, pela aspiração lenta da amostra para o tubo, há hemostasia primária e da coagulação, com formação de agregados de plaquetas e coágulos de fibrina. Algumas vezes, o coágulo é facilmente notado quando da agitação do tubo; em outras, a pequena quantidade de filamentos de fibrina é praticamente imperceptível. Nesse caso o correto é requerer novo material, essas amostras devem ser desprezadas já que a formação de coágulo afeta todos os parâmetros avaliados no hemograma (OLIVEIRA, 2007).

A ocorrência de pseudoplaquetopenia induzida pelo EDTA não é totalmente compreendida, mas possivelmente envolve anticorpos plaqueta-específicos (SANTOS, 2013). Com a incorporação dos analisadores automatizados, a rotina e a não confecção de esfregaços sanguíneos de todas as amostras analisadas, torna-se de extrema importância para o analista laboratorial, conhecer as alterações no resultado que podem indicar agregação plaquetária e como caracterizá-la de forma contundente, assim como, ter o domínio das técnicas para diminuir os erros causado por esse artefato (VIEIRA, 2022).

A distensão sanguínea deve ser feita, sempre que possível, antes de três horas, já que, após esse tempo, as alterações podem ser notadas e, após 12 a 18 horas, tornam-se chamativas. Laboratórios que recebem amostras transportadas de locais distantes devem estar conscientes das alterações induzidas pela estocagem. A estocagem prolongada de sangue anticoagulado com EDTA causa crenação ou alterações equinocíticas nos eritrócitos, degeneração dos neutrófilos e lobulação de núcleos de linfócitos (DALANHOL, et al, 2010).

A preparação do esfregaço sanguíneo (confeção da lâmina hematológica onde é feita a extensão sanguínea para visualização e análise microscópica) é um ponto importante para a realização de um hemograma que apresente resultados confiáveis. O esfregaço ideal deve ser livre de falhas, não muito espesso, nem muito fino e com a presença de calda. Para isso, utiliza-se lâmina extensora em ângulo de 45° para limitar o espaço da lâmina para melhor visualização das bordas, formando a cauda, centro e início do esfregaço. Após a confecção da lâmina, realiza-se a sua coloração para observação e contagens por microscopia (MELO, SILVEIRA, 2019).

Alguns erros podem ser observados durante a confecção e coloração do esfregaço sanguíneo como a técnica e lâmina extensora utilizada de forma inadequada, ângulo maior ou menor que 45° e a demora para realizar a distensão que pode resultar em formação de coágulos. O treinamento e a agilidade, são algo imprescindível e que ajuda a reduzir erros na execução da distensão sanguínea (ALVES, 2021). A coloração hematológica deve ser realizada quando a película estiver completamente seca. As colorações mais aplicadas no laboratório fiéis são Wright, Wright-Giemsa e May-Grunwald e Leishman. A realização consiste, em exemplo, corante de Leishman, cobrir o esfregaço completamente com o corante e deixar por 6 minutos. O esfregaço será fixado pelo metanol do corante. Colocar sobre a lâmina, de maneira uniforme, a mesma quantidade de água destilada, deixar repousar por tempo igual, totalizando 10 a 12 minutos de coloração. Lavar em água corrente, limpar o verso da lâmina e deixar secar na posição horizontal, em temperatura ambiente (SANTOS, 2013). As morfologias de eritrócitos, leucócitos e plaquetas devem ser mentalizadas na

seguinte sequência de considerações: tamanho; forma; coloração celular; inclusões.

Além disso, também temos a interferência de fármacos nas determinações analíticas, que se tornou um desafio constante na prática clínica laboratorial, devido à fácil aquisição de medicamentos e à prática da automedicação, sem obviamente a ciência do paciente sobre qualquer alteração no seu organismo quanto a essa prática “comum” (MARQUES, 2022).

O uso (e abuso) de determinadas medicações, notadamente os anti-inflamatórios não esteroidais (AINE; ex.: ácido acetilsalicílico, dipirona, diclofenaco, acetaminofen, indometacina), são causas frequentes de leucopenia na população geral. Além dos anti-inflamatórios, vários antibióticos (ex.: cloranfenicol, penicilina, cefalosporinas, sulfonamidas) também podem ocasionalmente apresentar o efeito colateral de leucopenia. Nesses casos, a leucopenia geralmente resulta da redução do número de neutrófilos, mas nos casos graves pode haver redução de outros tipos de leucócitos. Os mecanismos responsáveis por tais alterações incluem reações imunológicas contra os leucócitos e supressão da produção dessas células pela medula óssea. Geralmente a toxicidade hematológica é leve e temporária, entretanto, existem casos graves, o qual o tratamento tem que ser descontinuado devido ao risco de agranulocitose, formação de úlceras na mucosa oral, febre, risco de choque séptico, levando à óbito (NAOUM, 2017).

O treinamento profissional deve enfatizar a identificação de interferentes analíticos, a microscopia e a conferência do laudo a toda e qualquer amostra, individualizada, visto que temos grandes interferências que merecem ser vistos e revistos independentemente do volume de amostras, mantendo a qualidade e exatidão nos resultados, tendo desse modo o acompanhamento e sugestivas à possíveis questionamentos médicos.

## **OBJETIVO**

Um dos exames mais solicitados na rotina e urgência médica, o hemograma, têm a necessidade da padronização laboratorial e cuidado em todas as suas etapas, nos fatores pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos.

Tendo o olhar específico e prudente com cada amostra, preconizando a qualidade e precisão na análise. Avaliando a dimensão desse exame é proposto a diminuição de interferentes, visando segurança entre os procedimentos e métodos empregados, gerando maior prevenção de danos e melhoria na eficácia dentro dos laboratórios visto que através do hemograma podemos ter o diagnóstico precoce das mais variadas doenças e/ou de acompanhamento por toda a vida. Fornecendo de maneira clara e de fácil compreensão as informações básicas mais indispensáveis aos profissionais de todas as áreas da saúde com o conhecimento e atenção ao hemograma.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Para o presente estudo foram utilizadas as bases de dados Scientific Electronic Library Online (SCIELO), Google acadêmico e livros de Hematologia e Diagnóstico Clínico que abordassem o tema proposto e/ou fornecessem subsídios para a elaboração deste trabalho. A procura dos artigos foi limitada entre os anos de 2003 a 2023, usando-se como palavras-chave: Hemograma, intercorrências, fase pré-analítica, analítica e pós-analítica. Ao final do levantamento bibliográfico, os artigos foram selecionados conforme a qualidade e relevância com o tema proposto.

## **CONCLUSÃO**

Frase dita por Charles Robert Richet – aula ministrada na Faculdade de Medicina de Paris, 1887 – *“Aqueles que contradizer o Laboratório à clínica e a Clínica ao Laboratório não entendem nada, nem de Clínica nem de Laboratório”*.

Disseminar conhecimento e educar são ferramentas indispensáveis na nossa rotina, o profissional deve buscar sempre por atualizações, conteúdos e/ou ferramentas a evoluir dentro da prática médica, do básico ao avançado, já que o material coletado poderá decidir sobre a vida ou morte de um paciente, o presente trabalho elucidou aspectos relevantes como a redução de variáveis,

procedimentos adequados, redução de custos e riscos e a qualidade dos exames realizados em laboratórios.

A padronização de procedimentos no laboratório clínico ambulatorial e hospitalar, é de fundamental importância para obtenção de exatidão e da precisão dos resultados, eliminando, ou, pelo menos, reduzindo a ambiguidade e a subjetividade inerentes aos procedimentos adotados na rotina e urgência. A padronização começa com o preparo do paciente através das instruções a ele fornecidas pelo laboratório, no sentido de que o material seja coletado, armazenado e transportado da forma mais adequada e correta possível, seguida de processamento, análise, interpretação e digitação do laudo.

A automatização nos laboratórios é essencial e permite trabalhar com segurança e o controle microscópio/visualização de amostras patológicas permanece indispensável. O importante na análise dos resultados fornecidos por um analisador, é conhecer as suas limitações, possíveis interferências e saber interpretar os valores apresentados. É fundamental não esquecer da importância do sistema de gestão de qualidade, controle interno e externo, a correta manutenção de todos os equipamentos para que possam ser utilizados com o máximo potencial, garantindo o bom funcionamento de um laboratório clínico. Os contadores automáticos estão cada vez mais evoluídos tecnologicamente, com capacidade para avaliar um número crescente de parâmetros que são de grande importância no auxílio ao diagnóstico e monitorização da terapêutica, sendo assim o profissional se torna indispensável em todos os processos envolvidos. Logo, todas as variáveis relacionadas são passíveis de erros e devem ser avaliadas por profissionais com responsabilidade e qualificação profissional. Não é correto afirmar que só ocorrem erros nas etapas extra-analíticas, por envolverem pessoas, e que máquinas não erram, mas com o envolvimento sem processos não é válido.

## REFERÊNCIAS

ABDALLA, D. R.; RESENDE, I. C. S.; FEDRIGO, F. A. R.; OLEGÁRIO, J. G. P.; SIQUEIRA, P. F. B.; FAJARDO, E. F. **Avaliação do conhecimento de estudantes e profissionais da saúde sobre a fase pré-analítica de amostras hematológicas**. JCBS, v. 2, n.2, p. 52-56, 2016.

ALVES, FRANCISCO EDUARDO FERREIRA. Erros pré-analíticos na realização do hemograma: um estudo sobre a diminuição de interferentes. Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2021.

CONTROLLAB. **Boletim Controllab Qualifique**. 18. ed. Rio de Janeiro: Controllab, 2007. 8 p.

DALANHOL, MICHELE; ET AL. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. Fev, 2010. **Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico nas determinações do hemograma automatizado**. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000011>> Acesso: 30 Ago. 2023.

IMPORTÂNCIA DA QUALIDADE NA FASE PRÉ-ANALÍTICA. MARQUES, K. C. B. **Revista Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)**, 2022. Disponível em: <<https://www.rbac.org.br/artigos/importancia-da-qualidade-na-fase-pre-analitica/>>. Acesso em: 10 fev. 2023.

MARTINHO, M. S. C. **Hematologia em Laboratório Clínico**. São Paulo: Sarvier, 2012.

MELO, M.; SILVEIRA, C. M. **Laboratório de Hematologia: Teorias, técnicas e atlas**. Rio de Janeiro: Rubio, 2015.

NAOUM, FLAVIO AUGUSTO. **Doenças que alteram os exames hematológicos**. Rio de Janeiro, Atheneu: Cap. 10, p. 116, 2017.

OLIVEIRA, RAIMUNDO ANTONIO GOMES. **Hemograma: como fazer e interpretar**. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora. Cap. 7, p. 185-229, 2007.

RECOMENDAÇÕES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML): **Fatores pré-analíticos e interferentes em ensaios laboratoriais**. Edição 2018. p. 249. Disponível em: <<https://www.bibliotecasbpc.org.br/?P=4&C=443&ID=2899#2899>>. Acesso em: 20 mai. 2023.

ROSENFELD, et al. Valores de referência para exames laboratoriais de hemograma da população adulta brasileira: **Pesquisa Nacional de Saúde**. *Rev Bras Epidemiol*. 2019.

RIN, G. Pre-analytical workstations as a tool for reducing laboratory errors. *Journal of Medical Biochemistry*, **Georgetown**, v. 29, n. 4, p. 315- 324, 2010.

SANTOS, PAULO CALEB JUNIOR DE LIMA SANTOS. **Hematologia: métodos e interpretação**. São Paulo: Roca, 2013.

SILVA, PAULO HENRIQUE; ET AL. **Hematologia Laboratorial: teoria e procedimentos**. Porto Alegre: Artmed. Cap. 1, p. 1-6, 2016.

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica Medicina Laboratorial. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica Medicina Laboratorial para Coleta de Sangue Venoso**, 2 ed., 2009.