



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

JANAINA NARCIZO RODRIGUES

**INFLUÊNCIA DOS FATORES PRÉ-ANALÍTICOS NO RESULTADO
DO HEMOGRAMA**

**São José do Rio Preto-SP
2016**



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

JANAINA NARCIZO RODRIGUES

**INFLUÊNCIA DOS FATORES PRÉ-ANALÍTICOS NO RESULTADO
DO HEMOGRAMA**

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
2016**

INFLUÊNCIA DOS FATORES PRÉ-ANALÍTICOS NO RESULTADO DO HEMOGRAMA

Resumo

Introdução: O hemograma completo é um dos exames mais solicitados pelos médicos, através dele é possível avaliar as células sanguíneas de modo qualitativo e quantitativo e dessa forma contribuir para o diagnóstico de grande número de patologias, acompanhar sua evolução e resposta ao tratamento, além de servir de exame de rotina e triagem em saúde. A cada ano novas tecnologias analíticas surgem a fim de garantir a realização de grande quantidade de exames sem perder a qualidade do hemograma, mas é na fase pré-analítica que se encontra o maior percentual em erros que afetam a garantia dessa qualidade do resultado do hemograma e que conseqüentemente podem acabar afetando no diagnóstico do paciente.

Objetivo: Através de análise bibliográfica identificar quais são os fatores pré-analíticos e compreender como eles podem influenciar no resultado do hemograma. **Material e método:** Foi realizado um estudo de análise literária utilizando livros e fontes disponíveis em meio eletrônico. Foram considerados os seguintes aspectos para o estudo: a interferência dos fatores pré-analíticos no hemograma e erros pré-analíticos no hemograma. **Análise literária:** os fatores pré-analíticos são capazes de causar erros nos resultados hemograma, sendo que tais fatores podem ser relacionados ao exame e ao paciente. Destaca-se dentre esses fatores o jejum do paciente, homogeneização da amostra, tempo de preenchimento do tubo, presença de crioprecipitinas e a escolha e proporção do anticoagulante. Alguns desses fatores podem influenciar para que a amostra apresente coágulo ou microcoágulos, hemólise e lipemia, situações que podem comprometer significativamente o resultado do hemograma, mas outros fatores não são capazes de causar alterações que impliquem na mudança na interpretação clínica, mesmo assim é importante o conhecimento da influência destes parâmetros na realização do hemograma. **Conclusão:** Falhas na execução da fase pré-analítica devem ser evitadas, pois afetam irreversivelmente as amostras e proporcionam erros no resultado do hemograma, o mais comum são as alterações dos índices hematimétricos e a contagem de leucócitos e plaquetas. Como poucos estudos foram realizados nesta área é importante que os profissionais da saúde sigam todas as recomendações de coleta e preparo da amostra e que orientem adequadamente seus pacientes sobre o preparo para a coleta. Assim é possível garantir que o resultado do hemograma seja mais confiável e preciso.

Palavras Chaves: Hemograma, fase pré-analítica, erros pré-analíticos

1.INTRODUÇÃO

O exame hematológico, realizado através do hemograma, oferece a oportunidade de satisfazer o desejo de obter informação sobre o estado de saúde ou de doença do organismo e o acompanhamento de tratamentos (ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2001). Por meio desse exame podemos analisar variações quantitativas e morfológicas das séries sanguíneas (MELO; SILVEIRA, 2015). O hemograma pode ser realizado de forma manual ou automatizada, utilizando testes específicos para a série vermelha, série branca e plaquetas (AZEVEDO, 2008). A automação do hemograma tem proporcionado um aumento na eficácia e na confiabilidade dos resultados emitidos pelos laboratórios de hematologia. No entanto, deve ser constante a manutenção da garantia de qualidade para assegurar a confiabilidade dos testes hematológicos em todas as fases: pré-analítica, analítica e pós-analítica (MELO e SILVEIRA, 2015).

Os erros na fase pré-analítica podem chegar até 70% nos laboratórios clínicos que possuem um sistema de qualidade bem estabelecido (ANDRIOLO *et al*, 2010) e incluem situações relacionadas principalmente com coleta, armazenamento e transporte da amostra. Isso faz com que as interferências pré-analíticas devam ser monitoradas visando preservar a qualidade dos resultados obtidos (AZEVEDO, 2008).

Dessa forma para garantir a exatidão e precisão dos resultados no setor de hematologia é fundamental identificar e eliminar os erros relacionados aos fatores da fase pré-analítica, desenvolvendo procedimentos próprios com base nas normas de acreditação e certificação para garantir a qualidade do resultado do hemograma e evitar que os resultados liberados pelo laboratório sejam duvidosos ou errôneos o que pode interferir no diagnóstico do paciente e dessa forma diminuir a confiabilidade do laboratório.

2. OBJETIVO

Através de análise bibliográfica identificar quais são os fatores pré-analíticos e compreender como eles podem influenciar no resultado do hemograma, além de evidenciar quais os possíveis recursos que o laboratório clínico pode utilizar para corrigir os erros relacionados à fase pré-analítica.

3. MATERIAL E MÉTODO

Para construção deste artigo foi realizado estudo literário, enfocando nos seguintes aspectos: a influência dos fatores pré-analíticos no resultado do hemograma, as interferências e alterações causadas pelos fatores pré-analíticos na realização do hemograma e que recursos o laboratório de hematologia pode utilizar para solucionar problemas relacionados à fase pré-analítica.

Foram utilizadas fontes disponíveis em bibliotecas físicas através de livros e em meios eletrônicos (Google, Capes e Scielo), no período de junho de 2016 a setembro de 2016. Foram usadas como palavras chave “interferência fatores pré-analíticos no hemograma”, “erros pré-analíticos”, “realização do hemograma”. Foram considerados aqueles artigos com acesso disponível, cujo contexto era diretamente relacionado ao tema deste trabalho.

4. ANÁLISE LITERÁRIA

O resultado do hemograma é constituído por um perfil hematológico avaliado quantitativamente e qualitativamente em três séries diferentes: o eritrograma, que inclui a contagem de eritrócitos, dosagem de hemoglobina, determinação do hematócrito e dos índices hematimétricos (VCM, HCM, CHCM) e avaliação da morfologia, tamanho, e distribuição dos eritrócitos; o leucograma, que é composto pela contagem global e diferencial dos leucócitos; e

o plaquetograma que é definido pela contagem e avaliação morfológica de plaquetas. Todo esse perfil hematológico pode sofrer interferências por erros na fase pré-analítica (SANTOS; VIEIRA, 2013).

A fase pré-analítica de um exame laboratorial corresponde a todas as atividades que antecedem a análise, pode-se destacar principalmente os procedimentos de preparo do paciente e de coleta das amostras, processos fundamentais que se não realizados de acordo com os manuais de coleta podem comprometer a exatidão dos resultados ou mesmo alterá-los (OLIVEIRA, 2007). Publicações recentes indicam que a fase pré-analítica é responsável por 46 a 68% dos erros laboratoriais. Um erro na fase pré-analítica pode influenciar no resultado analítico do hemograma que o laboratório for liberar para o paciente (MELO; SILVEIRA, 2015).

Segundo Silva e Hashimoto (1999) os fatores pré-analíticos que podem influenciar no resultado do hemograma podem ser divididos em duas condições: fatores pré-analíticos relacionados ao paciente e fatores pré-analíticos relacionados ao exame.

Fatores pré-analíticos relacionados ao paciente

- Jejum:

Segundo Azevedo (2008) é recomendado que o paciente esteja em jejum na hora da coleta, pois a alimentação pode levar a uma leucocitose transitória devido a descarga de adrenalina e liberação dos neutrófilos do compartimento marginal para o circulatório.

Tomoeda *et al.* (2011) realizaram um estudo para verificar se o jejum interfere no hemograma, trabalhando com um grupo feminino e um masculino e coletando amostras em jejum e pós-prandial. Verificaram que no período pós-prandial existe realmente um aumento da contagem de leucócitos, além dessa condição, no grupo feminino observaram uma diminuição na contagem de hemácias, na concentração de hemoglobina e no hematócrito, o que não foi estatisticamente significativo para o grupo masculino, enquanto que a contagem de plaquetas não apresentou diferenças em ambos os grupos. Chegaram à conclusão que as variações encontradas entre a coleta em jejum e a pós-prandial não foram suficientes para a mudança da interpretação clínica do exame, mas consideraram o resultado importante para o conhecimento da influência que a ingestão alimentar pode causar nos parâmetros analisados pelo hemograma, tal conclusão corrobora com a análise realizada em 1975 por Humerez *et al.*, que trabalhou com um grupo 10 pessoas, coletando amostras em jejum de oito horas e após uma hora da alimentação, verificando que houve um pequeno aumento de leucócitos e

eritrócitos, mas nas condições em que se apresentam os resultados comparados ao grupo controle, constataram que alimentação não provoca alterações significativas dos elementos sanguíneos.

Outro fator importante a ser considerado é que ao coletar a amostra após a refeição com altos índices de gordura, ou após mamada em lactantes, ou em pacientes recebendo emulsão de gordura parenteral ou com hipertrigliceridemia, o plasma poderá estar lipêmico (MARTINHO, 2012). Essa lipemia promove um aumento da densidade óptica do plasma, podendo afetar a dosagem de hemoglobina, já que a opalescência intensa pode aumentar seu resultado em mais de 1g/dL, e essa falsa elevação aumenta o CHCM a níveis improváveis, por isso deve-se evitar fazer a coleta nas duas horas após refeições ricas em gordura (FAILACE, 2015).

Quando a lipemia é acentuada é necessário corrigir o valor da hemoglobina e consequentemente do CHCM, para isso pode ser realizada a centrifugação da amostra e retirada do sobrenadante lipêmico, substituindo-o pelo mesmo volume de diluente do equipamento ou por solução fisiológica, posteriormente homogeneizar e reanalisar a amostra (OLIVEIRA, 2014). Outra maneira seria utilizar um cálculo para a correção do valor da hemoglobina, que se baseia no índice constante de 2,98 entre VCM e HCM, mas que pode ser utilizado somente em amostras com VCM normais ($Hb \text{ corrigida} = VCM \times \text{Eritrócitos} / 2,98 \times 10$) (MARTINHO, 2012, p.207).

- Atividade física:

A prática de atividade física antes de realizar o hemograma deve ser considerada como uma variável pré-analítica, tendo em vista que, exercícios promovem leucocitose transitória com neutrofilia (FAILACE, 2009).

Ott e Oliveira (2013) fizeram uma avaliação das principais alterações hematológicas verificadas em jogadores de futebol profissional e constataram que após teste de esforço físico intenso houve aumento do número total de leucócitos, verificou-se que esta leucocitose transitória possa ser decorrente, especialmente, de linfocitose, neutrofilia e, em menor proporção de monocitose, como reação imediata de resposta aguda do organismo ao teste de esforço máximo. Por isso deve-se recomendar que o paciente não pratique atividade física antes da coleta de sangue.

- Tabaco:

O uso do tabaco provoca aumento das contagens leucocitárias por conta da neutrófilia e monocitose. Na série vermelha pode aumentar a contagem dos eritrócitos e elevar o nível de hemoglobina, sendo que essas alterações podem persistir por meses após a suspensão de seu uso. Esse achado é importante quando são realizados hemogramas rotineiramente (MARTINHO, 2015).

- Crioaglutininas:

A aglutinação eritrocitária é um interferente comum na contagem de hemácias. Essa aglutinação ocorre na presença de crioaglutininas, que são anticorpos frios, geralmente do tipo IgM, que além da aglutinação pode causar hemólise intravascular (MARTINHO, 2015). Na maioria dos casos, a aglutinação ocorre na coleta, no momento em que o sangue entra em contato com o tubo não aquecido, formando o empilhamento por aglutinação das hemácias, essa aglutinação é contada pelos analisadores automatizados, promovendo valores de VCM, HCM e CHCM falsamente alterados (MELO; SILVEIRA, 2015). Isso ocorre porque os analisadores hematológicos consideram de 200 a 300fL o tamanho máximo para se contar como hemácia e isso corresponde aproximadamente três hemácias agrupadas, que são contadas como uma só, diminuindo o número total de hemácias e aumentando os índices hematimétricos (MARTINHO, 2015).

É possível corrigir esse erro de análise aquecendo-se o sangue em banho-maria a 36⁰C por no mínimo 30 minutos e somente após esse procedimento realizar uma nova análise da amostra (MELO; SILVEIRA, 2015). Caso os eritrócitos não desaglutinem por completo deve-se realizar uma nova coleta e colocar a amostra em banho-maria por uma hora, em seguida repassar no aparelho. Em algumas situações, mesmo após muito tempo em aquecimento, as amostras podem continuar com agregados, sendo necessário fazer uma tentativa de coleta próxima ao equipamento e processando imediatamente para evitar a queda da temperatura somática (OLIVEIRA, 2014).

Fatores pré-analíticos relacionados ao exame

- Postura do paciente:

Coletar amostra do paciente em decúbito dorsal determina um aumento da contagem eritrocitária, hemoglobina e hematócrito em até 3% (MARTINHO, 2015). De acordo com Failace (2009), a mudança do repouso na horizontal para a posição vertical gera um acúmulo gravitacional e a transudação nos membros inferiores, diminuindo o volume plasmático o que

aumenta a contagem eritróide do amanhecer ao entardecer em 2-3% e podendo chegar a 5-10% em pacientes obesos e cardiopatas.

- Horário da coleta:

O horário da coleta também pode modificar os parâmetros leucocitários, pois a contagem vespertina pode sofrer um incremento de até 15% em relação à contagem matinal (MARTINHO, 2015; p.139). O hematócrito pode estar elevado de 2 a 5% pela manhã em comparação com a noite (AZEVEDO, 2008).

Failace (2009) afirma que elevação de leucócitos da manhã pra tarde costuma ser clinicamente irrelevante, sendo assim, a coleta pode ser feita a qualquer hora do dia. Mas em casos onde o paciente apresente policitemia em hemograma coletado no fim do dia, esta coleta deverá ser repetida na manhã seguinte e caso o paciente apresente neutropenia em condições basais deve ser feita a confirmação com coleta no fim do dia.

- Garroteamento do paciente:

Não é interessante que o tempo de garroteamento ultrapasse um minuto, já o hematócrito tende a elevar-se de 2,8 a 4,5% após três minutos de garroteamento. Isso ocorre por causa da hemoconcentração e retenção de elementos figurados do sangue o que consequentemente altera os valores do hematócrito (AZEVEDO, 2008). O correto é que logo após a punção da veia o garrote seja liberado, o que acontece muitas vezes é que a parede da veia pode colabar no bisel da agulha quando se libera o garrote e consequentemente o sangue para de fluir para o interior da seringa ou do tubo a vácuo, nesse caso basta fazer uma pequena rotação na agulha que fará com que o sangue volte a fluir (SILVA; HASHIMOTO, 1999).

- Anticoagulante:

Uma ampla variedade de anticoagulante era utilizada no passado para a realização do hemograma: solução de oxalato, heparina, EDTA e seus sais (MARTINHO, 2015). Apesar de haver vários anticoagulantes, o mais indicado para a realização do hemograma é o K₂EDTA (ácido etileno diamino tetracético dipotássico), porque não interfere na morfologia celular (AZEVEDO, 2008,). O EDTA- K₂ também elimina efeitos dilucionais nas amostras, principalmente as de pequeno volume, já que é disponibilizado no mercado na forma de spray seco revestindo a parede do tubo, enquanto que o EDTA- K₃ (ácido etileno diamino tetracético tripotássico) é comercializado na forma líquida, o que pode resultar em amostras diluídas e com eritrócitos apresentando-se de forma contraída devido ao efeito osmótico mais

pronunciado, resultando em diminuição do volume globular de cerca de 2-3% nas primeiras quatro horas (MARTINHO, 2015). Mas o EDTA tripotássico, por ser mais solúvel no sangue, proporciona uma anticoagulação mais rápida, se for usado deve-se respeitar em todas as coletas a concentração de 1mg de anticoagulante por mililitro de sangue (SILVA; HASHIMOTO, 1999). Ludtke *et al.* (2013) avaliando a interferência do EDTA no hemograma relacionado a diferentes concentrações sangue/anticoagulante, verificaram que as amostras sanguíneas coletadas em EDTA tripotássico (forma líquida) quando processadas em até 30 minutos após a coleta, não interfere nos parâmetros do hemograma.

O excesso de EDTA em relação ao sangue nos tubos provoca encolhimento das hemácias, degeneração dos leucócitos e diminuição significativa do volume globular e aumento do CHCM. O EDTA pode ainda causar contagens falsamente diminuídas de plaquetas e aumentar o volume plaquetário médio (VPM) em função do tempo de coleta quando determinado por impedância e diminuir quando determinado por método óptico, isso ocorre como consequência porque o EDTA pode provocar inchaço e desintegração das plaquetas (MARTINHO, 2015).

Em alguns casos, podemos observar a pseudoplaquetopenia *in vitro* após a coleta com EDTA devido a uma agregação plaquetária, onde ocorre a uma modificação antigênica na superfície da plaqueta fazendo com que elas se aglutinem, ou devido ao fenômeno descrito como satelitismo plaquetário, que ocorre por alterações nas imunoglobulinas plasmáticas, induzindo à adesão das plaquetas à superfície dos neutrófilos (BUDAG; CADORE, 2013). Esse fenômeno de adesão é mais ativo à temperatura abaixo de 25⁰C e ocorre com mais frequência em pacientes com doenças autoimunes, hepáticas e neoplasias, principalmente leucemia linfóide crônica (MELO; SILVEIRA, 2015).

Além da pseudoplaquetopenia, o EDTA também pode servir como ponte de ligação de anticorpos presentes no indivíduo e provocar aglutinação leucocitária ou leucoagregação *in vitro*. Essa situação é dependente do tempo e temperatura, e deve-se suspeitar dela quando o número de leucócitos estiver anormalmente baixo ou após contagens flutuantes e histogramas anormais em aparelhos automatizados. Nessa condição os aparelhos podem acusar alarmes, os mais frequentes são os de desvio a esquerda e de granulócitos imaturos, por isso é muito importante a avaliação microscópica do esfregaço em casos de leucopenias anormais para verificar se há a presença de leucoagregação (MARTINHO, 2015).

A heparina é considerada um bom anticoagulante, pois preserva a forma e o volume dos eritrócitos, porém não é frequentemente usada na rotina porque altera a coloração da extensão sanguínea, ficando com uma cor avermelhada de fundo, a qual realça a membrana

eritrocitária dificultando a visualização das alterações eritrocitárias e também das plaquetas (SILVA; HASHIMOTO, 1999).

- Tempo de preenchimento do tubo:

A velocidade do preenchimento do tubo é um fator importante porque a amostra obtida com dificuldade ou em tempo prolongado é suscetível a formação de microcoágulos e agregados plaquetários, que irão induzir a falsas citopenias (MARTINHO, 2015; p.139).

- Homogeneização:

Logo após a coleta o tubo com a amostra deve ser homogeneizado imediatamente após seu preenchimento, devendo-se ser invertido 180° e retornado a sua posição inicial de 8 a 10 vezes para evitar a formação de coágulos. Essa homogeneização deve ser realizada suavemente para evitar a hemólise da amostra (AZEVEDO, 2008). Quando a hemólise é intensa pode afetar os resultados do hemograma, pois eleva a dosagem de hemoglobina e reduz o número de hemácias com conseqüente aumento do CHCM. Enquanto que a presença de coágulos ou microcoágulos consomem as plaquetas da amostra e interferem na contagem de plaquetas levando a uma pseudotrombocitopenia (MELO; SILVEIRA, 2015).

As amostras que ficam esperando muito tempo para serem analisadas acabam sedimentando, sendo necessário nesses casos que ela seja homogeneizada antes do exame em homogeneizadores hematológicos por pelo menos cinco minutos e quando uma amostra, por qualquer motivo, precisa ser repetida, o tempo de homogeneização deve ser de 15 minutos. Esse procedimento é importante para que ocorra uma distribuição adequada dos componentes sanguíneos da amostra, evitando resultados alterados nas contagens hematológicas (SILVA; HASHIMOTO, 1999).

- Confeção e coloração do esfregaço sanguíneo:

O ideal é que o esfregaço seja confeccionado no momento da coleta, sem anticoagulante EDTA, para evitar a alteração morfológica das células, mas hoje em dia alguns laboratórios confeccionam os esfregaços sanguíneos no setor com EDTA, por meio de aparelhos automatizados (*slide-markers*), que além de realizarem os esfregaços sanguíneos também coram (MELO; SILVEIRA, 2015). Martinho (2012) relata que alguns trabalhos sugerem que um atraso de três horas na confecção da extensão utilizando sangue com EDTA é permitido sem maiores interferências.

As colorações hematológicas costumam utilizar água em seu processo, e por isso é extremamente importante saber qual o pH desta água, porque o pH neutro não favorece a nenhuma coloração, enquanto que num pH ácido a extensão tende a ficar vermelha porque favorece a ação da eosina, simulando o aparecimento de granulações tóxicas, e o pH básico favorece a ação do azul de metileno e a tendência é a lâmina ficar azul, o que dificulta a visualização da policromatofilia (SILVA; HASHIMOTO, 1999). Oliveira (2014) relata ainda que a alcalinidade da água pode impossibilitar a caracterização do citoplasma azul-claro dos linfócitos e azul pálido dos monócitos, tornando-os azul mais escuros e dificultando a diferenciação entre monócitos e linfócitos.

Quando a coloração estiver ácida pode-se fazer a correção utilizando um tampão de pH mais elevado ou aumentando o tempo de coloração, e se a coloração estiver alcalina pode-se diminuir a espessura do esfregaço e o tempo de coloração ou usar um tampão de pH mais baixo (OLIVEIRA, 2014).

- Transporte e armazenamento da amostra

O transporte da amostra é também um fator que interfere diretamente na qualidade da amostra. Esse transporte deve ser realizado entre 18° C a 25°C, em recipiente isotérmico, higienizável e impermeável. A amostra deve ficar na posição vertical durante todo o transporte e chegar ao local para a análise no máximo em quatro horas após a coleta. Isso garante a estabilidade desde a coleta até a realização do exame (MELO; SILVEIRA, 2015). Mas Martinho (2012) relata que se amostra for mantida nessa mesma condições de temperatura, a contagem de eritrócitos, leucócitos, plaquetas e índices hematimétricos são estáveis por até oito horas após a coleta da amostra, após esse período o VCM aumenta em uma taxa progressiva de 3 a 4fL a cada 24 horas, mas tal efeito não é observado se a amostra for armazenada a 4oC por até 24 horas. Se a amostra for mantida em altas temperaturas num período de 48 a 72 horas começa-se observar hemólise nas amostras, fato que resulta na diminuição da contagem de eritrócitos e do volume globular, com aumento do HCM e CHCM.

Dalanhol *et al.*(2010) realizaram um estudo para verificar a influência da estocagem do sangue no hemograma automatizado e observaram que os resultados da contagem dos eritrócitos, tanto na temperatura ambiente quanto na refrigerada a 4°C, não sofreram alterações significativas até as 24 horas após a coleta. Enquanto que os resultados dos parâmetros CHCM e contagem de plaquetas mostraram diferenças estatisticamente significativas para ambas as temperaturas de estocagem, já na temperatura ambiente, os

parâmetros que mais apresentaram diferença estatística significativa foram o hematócrito, o VCM e o índice de variação do tamanho dos eritrócitos (RDW). No entanto, eritrócitos normais são pouco afetados quando conservados em temperatura ambiente por até seis horas, mas após longos períodos de armazenamento em contato com EDTA os eritrócitos podem apresentar crenação e esferotização (HENRY, 2008).

As contagens de reticulócitos geralmente são confiáveis por 24 horas a 4°C quando colhidas em EDTA, contudo em temperatura ambiente começa a diminuir em 6 horas e os eritroblastos tendem a desaparecer das amostras dentro de um a dois dias de armazenamento (MARTINHO, 2012).

Com relação aos leucócitos, Dalanhol *et al.*(2010) observaram que apesar de não haver diferença estatística significativa entre temperatura ambiente e a 4°C após 24 horas de armazenamento, houve uma baixa da contagem nos períodos de 48 a 72 horas. Martinho (2012) descreve que a contagem absoluta de linfócitos pode diminuir progressivamente ao longo do tempo, podendo chegar até 50% da contagem inicial após 72 horas de armazenamento.

À medida que o sangue com EDTA envelhece no tubo de ensaio, começam a acontecer alterações na morfologia dos leucócitos. Dentro de meia hora os núcleos dos neutrófilos podem começar a inchar com alguma perda da estrutura da cromatina (HENRY, 2008). Martinho (2012) descreve que os neutrófilos podem apresentar mudanças no núcleo, às vezes tornado-se picnóticos e apresentando figuras de cariorrexe.

Os monócitos e os neutrófilos podem apresentar vacúolos citoplasmáticos e nas células mononucleares pode aparecer uma lobulação nuclear, com fendas profundas que podem conferir ao núcleo um aspecto de folhas de trevo, com perda do citoplasma e núcleo esfumado (HENRY, 2008). Se o bioquímico for inexperiente não saberá reconhecer o artefato de estocagem e ao realizar a contagem diferencial poderão ser registradas falsas neutropenias e linfocitoses (DALANHOL *et al.*, 2010).

Outra alteração artefactual muito rara pode acontecer quando a amostra é aquecida acidentalmente quando são transportados por um veículo quente, por exemplo. Isto causa grosseira fragmentação dos eritrócitos, que pode ser confundida com a piropoiquilocitose hereditária (BAIN, 2006).

Como as contagens hematológicas realizadas em amostras colhidas em EDTA e armazenadas a 4°C não apresentam erros significativos durante as primeiras 24 horas, o sangue pode ser seguramente armazenado em refrigerador, cuidando para a amostra não congelar. Tem sido sugerido que os resultados de hemograma de amostras coletadas em EDTA devam

permanecer aproximadamente dentro de 5% dos valores iniciais quando armazenados a 4°C durante 24 horas. Após as 24 horas de armazenamento os resultados podem não ser reprodutíveis e confiáveis, portanto para evitar que resultados equivocados deve se evitar analisar amostras além 24 horas de armazenamento (MARTINHO, 2012).

- Higienização adequada do aparelho hematológico

Failace (2009) descreve que ao processar controles de qualidade nos contadores hematológicos observou que a hemoglobina e o CHCM podem se elevar pela a presença de sujeira na parede da câmara de leitura do contador. A limpeza com detergente, como recomendada pelo fabricante do aparelho, corrige o problema.

5. CONCLUSÃO

Considerando todos os fatores pré-analíticos elencados neste trabalho e todas as alterações que estes podem proporcionar, revela-se que a fase pré-analítica pode influenciar no resultado do hemograma que o laboratório irá liberar para o paciente, podendo causar alterações na contagem dos leucócitos, plaquetas, eritrócitos, na dosagem de hemoglobina, na determinação dos índices hematimétricos e na avaliação morfológica das células. As alterações mais visíveis ocorrem quando a amostra apresenta coágulo ou microcoágulos, hemólise e lipemia por consequência de erros pré-analíticos. Embora os diversos estudos na prática tenham revelado que as variações encontradas não são suficientes para uma mudança na interpretação clínica, faz-se necessário mais estudo na área para esclarecer melhor as implicações da fase pré-analítica no resultado do hemograma. Desse modo, uma adequada realização da fase pré-analítica pode evitar a repetição desnecessária do exame, além de um diagnóstico incorreto, sendo de extrema importância que os profissionais da saúde sigam todas as recomendações de coleta e preparo da amostra e que orientem adequadamente seus pacientes sobre o preparo para a coleta.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIOLO, A; MARTINS, A.R; BALLARATI, C.A.F; BARBOSA, I.V; MENDES, M.A.; MELO, M.R.; SUMITA, N.M.; ROMANO,P.; TRINDADE, P.A. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso**. 2. ed. Barueri: Minha Editora, 2010.

AZEVEDO, M. R. A. **Hematologia Básica**. 4.ed. São Paulo: Luana Editora, 2008.

BAIN, B.J. **Células Sanguíneas: Um guia prático**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

BUDAG, C. C.; CADORE, G. A. **Interferência do Transporte e Uso de Diferentes Anticoagulantes na Contagem de Plaquetas, no Volume Plaquetário Médio e no Coeficiente de Variação do Volume Plaquetário**. Monografia, Itajaí, 2013.

DALANHOL, M.; BARROS, M.; MAZUCHELLI, J.; SILVA, P. H.; HASHIMOTO, Y; LARGURA, A. Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico nas determinações do hemograma automatizado. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São Paulo, vol.32, n.1, Fev/Mar, 2010.

FAILACE, R. **Hemograma: manual de interpretação**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

HENRY, J. B. **Diagnósticos Clínico e Tratamentos por Métodos Laboratoriais**. 20.ed. Barueri: Manole, 2008.

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.

LUDTKE, L.; CORREA, J. A. R. A.; OLIVEIRA, S. C. Q.; HENNEBERG, R.; NASCIMENTO, A. J.; FRIGERI, H. R.; SILVA, P. H. Avaliação da Interferência do EDTA no Hemograma Relacionado a Diferentes Concentrações Sangue/Anticoagulante. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.14, n.2, Abr./Jun., 2013.

OLIVEIRA, R. A. G. **Hemograma: como fazer e interpretar**. São Paulo: L&PM, 2007.

OLIVEIRA, R. A. G. **Atlas de Hematologia**. São Paulo: Livraria Médica Paulista, 2014.

OTT, J. N.; OLIVEIRA, K. R. **Análise Hematológica de Jogadores de Futebol Profissional Antes e Após Esforço Físico Intenso.** Relatório técnico-científico, INIJUÍ, 2013

SILVA, P. H.; HASHIMOTO, Y. **Interpretação Laboratorial do Eritrograma.** São Paulo: Lovise, 1999.

SANTOS, C. M. A.; VIEIRA, L.C.S. **Interferência dos Fatores Pré – analíticos na Realização do Hemograma.** Especialização em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial pela Atualiza: Salvador, 2013.

TOMOEDA, L. Y.; KRUM, E. A.; FAVERO, G. M.; HENNEBERIF, R. Influência da alimentação sobre o hemograma. **Rev. bras. anal. clin.**, 2011.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R. **Hematologia: Fundamentos e Práticas.** São Paulo: Atheneu, 2001.