
AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA DO EDTA NO HEMOGRAMA RELACIONADO A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES SANGUE/ANTICOAGULANTE

EVALUATION OF THE INTERFERENCE OF EDTA IN THE BLOOD COUNT RELATED TO DIFFERENT CONCENTRATIONS BLOOD/ANTICOAGULANT

LUDTKE, Loana¹, CORREA, Janaína A. R. A.², OLIVEIRA, Silvia C. Q.³, HENNEBERG, Railson⁴, NASCIMENTO, Aguinaldo J.⁵, FRIGERI, Henrique R.⁶; SILVA, Paulo Henrique^{4*}

¹ Estudante do Curso de Especialização em Análises Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR); Bioquímica do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba (HUEC);

² Bioquímica do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba (HUEC);

³ Bioquímica do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba (HUEC);

⁴ Professor do Departamento de Patologia Médica - UFPR; Email: paulo.hs@ufpr.br

⁵ Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná.

⁶ Escola de Saúde e Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

RESUMO:

Quanto maior a sofisticação tecnológica dos contadores hematológicos, maior é a exigência da fase pré-analítica. Uma das principais variáveis da fase pré-analítica que interfere no resultado do hemograma é a relação sangue/anticoagulante. A literatura relata que ocorrem alterações significativas caso haja distorção desta relação. O estudo teve como objetivo avaliar se existe alteração no hemograma quando há um excesso de anticoagulante utilizando o aparelho Cell Dyn Ruby. Foram analisadas 50 amostras de sangue de pacientes atendidos pelo Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba – PR. Foram coletados de cada paciente 4 tubos nos quais foram colocados 1, 2, 3 e 4 mL de sangue. O anticoagulante utilizado foi o EDTA K3. O tubo que recebeu 4 mL de sangue obedece à relação sangue/anticoagulante ideal, nos demais frascos (1, 2 e 3mL) havia excesso de anticoagulante. O tempo entre a coleta e a análise das amostras não foi superior a 30 minutos. A análise estatística demonstrou que não existe diferença significativa entre os quatro tubos nas diferentes concentrações sangue/anticoagulante quando o contador automatizado utilizado é o Cell Dyn Ruby.

Palavras-chave: EDTA, Anticoagulante, Hemograma, Contador automatizado.

ABSTRACT:

The hematological counters are more sophisticated now-a-days, so the demanding of the pre-analytical phase must be greater. one of the main various pre-analytical phase which interferes in the blood count results is the relationship between blood and anticoagulant. The literature reports a significant alterations in the blood counts results when this relationship is altered. The aim of this study was to evaluate if there is this alteration and how significant it can be. A peripheral blood samples from 50 patients, were attended in the Clinical Laboratory of the Evangelical Hospital of Curitiba - PR were analysed. From each patient was collected 4 bottles, in tripotassium EDTA, containing 1, 2, 3 and 4 mL of blood, in the last bottle the relationship between blood and anticoagulant was corrected. In the remainings was anticoagulant in excees. The time between the blood sample collection and the analysis of blood did not exceed 30 minutes. Statistical analysis showed no significant difference between the four samples, besides the different concentration between blood and anticoagulant, when Cell Dyn Ruby hematological counter was used.

1. INTRODUÇÃO

O hemograma atualmente é realizado em contadores eletrônicos que aspiram e diluem o sangue e fazem as contagens em múltiplos canais e substituem as contagens manuais com maior precisão e em um intervalo de tempo bem menor (FAILACE, 2006). A tecnologia utilizada pelos contadores hematológicos está cada vez mais sofisticada e os resultados mais precisos, pois o objetivo mais importante dos Laboratórios de Análises Clínicas é garantir aos médicos e pacientes um atendimento eficiente e seguro, fornecendo laudos com resultados rápidos e confiáveis para posterior tomada de decisão em relação à conduta clínica a ser adotada (GUIMARÃES *et al*, 2011). Estima-se que aproximadamente 70% de todos os diagnósticos são feitos com base nos testes laboratoriais (PLEBANI, 2004) e que os resultados desses testes são responsáveis por afetar entre 60 a 70% das decisões sobre a admissão, alta hospitalar e regime terapêutico dos pacientes (FORSMAN, 1996).

Entretanto, para que o laboratório clínico possa confiar em seus resultados, mesmo com todo o avanço tecnológico, a fase pré-analítica é de grande importância. Refere-se como condições pré-analíticas as variações cronobiológicas, o gênero, a idade, a atividade física, o jejum, a dieta, o uso de drogas para fins terapêuticos ou não, aplicação de torniquete, características da amostra como hemólise e lipemia, alguns aspectos do tubo de coleta como o uso de gel separador, conservantes e anticoagulantes (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA, 2005).

Utiliza-se, para execução do hemograma, anticoagulantes que mantêm o sangue fluido e total pela retirada do cálcio. Esses anticoagulantes geralmente não interferem na composição do sangue, de modo que não prejudicam o resultado final do exame (MOURA, 1999), mas se a concentração de qualquer anticoagulante for inadequada para o volume de sangue, podem surgir erros significativos (LEE, 1998). Então, mesmo com os contadores hematológicos mais sofisticados, precisa-se cuidar com a relação sangue/ anticoagulante. O anticoagulante de escolha para o hemograma é o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) que pode ser encontrado na forma de um sal dissódico, dipotássico ou tripotássico (SILVA; HASHIMOTO; ALVES, 2009).

Então, com o avanço tecnológico dos equipamentos de laboratório e os requisitos da fase pré-analítica, o presente trabalho teve como objetivo estudar a interferência do excesso de EDTA no resultado do hemograma utilizando o contador hematológico Cell Dyn Ruby.

2. OBJETIVO

Estudar as alterações causadas pelo EDTA, no resultado do hemograma automatizado, quando este está em excesso.

3. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras sanguíneas foram coletadas de pacientes atendidos pelo Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Evangélico, após prévio consentimento dos mesmos. O grupo de estudo foi composto por 50 indivíduos acima de 18 anos, independente do sexo e foram excluídos da amostra pacientes leucêmicos e internados na Unidade de Terapia Intensiva.

Foram coletados 4 frascos contendo 1, 2, 3 e 4 mL de sangue, respectivamente. O sangue foi coletado pelo sistema a vácuo (Vacuette) em tubos contendo EDTA tripotássico na forma líquida. O frasco que recebeu 4 mL de sangue obedece à relação sangue/anticoagulante ideal, nos demais frascos (1, 2 e 3 mL) havia excesso de anticoagulante. As amostras foram imediatamente encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas, homogeneizadas por 5 minutos e analisadas no contador automatizado Cell Dyn Ruby – Abbott. O tempo entre a coleta e a análise pelo contador automatizado não foi superior a 30 minutos. A metodologia empregada pelo Cell Dyn Ruby usa como princípio para a contagem global e diferencial (em cinco partes) de leucócitos a tecnologia denominada MAPSS (*Multiple Angle Polarized Scatter Separation of White Cell*) que significa classificação leucocitária a partir da medida da dispersão de raio laser em vários ângulos.

Para proceder a análise dos dados, foram realizadas a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

4. RESULTADOS

Na tabela 1 estão apresentadas as médias dos cinquenta pacientes nos quatro tubos com volumes diferentes de sangue nos parâmetros analisados do hemograma – leucócitos (WBC), hemácias (RBC), hemoglobina (HGL), Volume Globular, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), Red Cell Distribution Width (RDW) e plaquetas. A análise da variância e o teste de Tukey indicaram que não existe diferença estatisticamente significativa entre as quatro relações sangue/anticoagulante, onde $p < 0,05$.

TABELA 1 - Média dos valores dos 50 pacientes nos 4 tubos com volumes diferentes de sangue nos parâmetros analisados (Tukey $p < 0,05$).

Parâmetros Analisados	Volumes de sangue			
	1mL	2mL	3mL	4mL
WBC (μL)	8897,6	8798,6	8802,2	8761,8
RBC (milhões/ μL)	4,27	4,23	4,23	4,22
HGL (g/dL)	12,9	12,8	12,8	12,8
Volume Globular(%)	37,6	37,6	37,7	37,7
VCM (fL)	88,4	89,1	89,4	89,6
HCM (pg)	30,4	30,4	30,4	30,4
CHCM (%)	34,37	34,09	33,99	33,96
RDW (%)	11,7	11,8	11,9	11,9
Plaquetas (μL)	276.000	273.000	275.000	271.000

5. DISCUSSÕES

Dalanhol e colaboradores (2010) avaliaram amostras sanguíneas com relação sangue/anticoagulante indicada pelo fabricante em tempos e temperaturas diferentes (ambiente e 4°C) e concluíram que os resultados dos hemogramas podem ser satisfatórios para a maioria dos parâmetros quando realizados entre 12 e 24 horas após a coleta utilizando o contador automatizado XT2000i (Sysmex). Bazé Neto e Araújo (2010) utilizaram o aparelho KX-21N (Sysmex) e analisou amostras sanguíneas também obedecendo a relação sangue/anticoagulante em até 48 horas, onde a hemoglobina e as hemácias não sofreram alterações significativas, mas o VCM sofreu alteração de quase cinco pontos percentuais nas primeiras 12 horas. Oliveira (2007) analisou sangue canino e observou que os valores de hemoglobina, volume globular, RDW e plaquetas não apresentaram alterações em diferentes concentrações sangue/anticoagulante e tempo de conservação em até 14 horas em temperaturas de 4 a 8°C e ambiente (não foi informado o aparelho utilizado).

Segundo autores como Failace (2006), Silva e colaboradores (2009) e Oliveira (2007), o excesso de EDTA pode causar diminuição do VCM. Todas as amostras deste trabalho foram processadas em, no máximo, 30 minutos após a coleta de sangue. Este tempo máximo pode ter influenciado a não alteração dos parâmetros do hemograma, pois houve pouco tempo de interação entre o anticoagulante EDTA e o sangue.

Atualmente, os laboratórios possuem vários postos de coleta, onde as amostras demoram a serem processadas devido ao transporte. Já em ambiente hospitalar, onde as amostras são rapidamente processadas, a relação sangue/anticoagulante não interfere nos parâmetros do hemograma segundo os resultados deste trabalho quando utilizado o aparelho Cell Dyn Ruby. O resultado deste estudo é de grande valia, pois em ambiente hospitalar a coleta de sangue é, muitas

vezes, difícil pela debilidade dos pacientes, o que resulta em amostras sanguíneas com volume muito menor do que o exigido pelo fabricante dos tubos de coleta. Um exemplo são os pacientes da Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e Unidade de Terapia Intensiva - Neo Natal (UTI-Neo Natal). Os Laboratórios de Análises Clínicas que não utilizam o contador hematológico Cell Dyn Ruby, devem estabelecer se existe diferença significativa no resultado do hemograma quando a relação sangue/anticoagulante recomendada não é obedecida.

6. CONCLUSÃO

Quando as amostras sanguíneas, coletadas em EDTA tripotássico (forma líquida), são processadas em até 30 minutos após a coleta, a relação sangue/anticoagulante não interfere nos parâmetros do hemograma quando se utiliza o aparelho Cell Dyn Ruby – Abbott.

7. REFERÊNCIAS

BAZÉ NETO, G. F.; ARAÚJO, M.M. de. Alterações Hematológicas em Amostras Armazenadas e Analisadas em Condições de Tempo e Temperatura Distintos. 103 ed. **NewsLab**, 2010.

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. São Paulo: **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. v.32 n1, 2010.

FAILACE, R. **Hemograma. Manual de interpretação**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A, 2006.

FORSMAN, R. W. Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations? **Clin Chem.**, v. 42 n. 5, p. 813-816, 1996.

GUIMARÃES, A. C.; WOLFART, M.; BRISOLARA, M.L.L; DANI, C. O Laboratório Clínico e os Erros Pré-analíticos. **Revista HCPA**, v.31 n.1. p. 66, 2011.

LEE, G. R.; BITHELL, T. C.; FOERSTER, J.; ATHENS, J. W.; LUKENS, J. N. **Hematologia Clínica**. 1ª ed. São Paulo: Manole, 1998.

MOURA, R. A.; WADA, C. S.; PURCHIO, A.; ALMEIDA, T. V. de. **Técnicas de**

Laboratório. 3ª ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

OLIVEIRA, A.C.; RIBEIRO FILHO, J.D.; GUIMARÃES, J. D.; SILVA, A.R; DANTAS, W.M.F.; BONFA, L.P; FARIAS, S.K. de. Concentrações de anticoagulante, tempo e temperatura de armazenagem sobre os parâmetros hematológicos no hemograma automatizado. Santa Maria: **Ciência Rural**. v.40 n.12, p. 2521-2526, 2010.

OLIVEIRA, R.A.G. **Hemograma. Como fazer e interpretar.** Livraria Médica São Paulo: Paulista Editora Ltda., 2007.

PLEBANI, M. Towards quality specifications in extra-analytical phases of laboratory activity. **Clin Chem Lab Med**, v. 42, n. 6, p. 576-577, 2004.

SILVA, P. H. da; HASHIMOTO Y; ALVES H. B. **Hematologia Laboratorial.** Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA (SBPC). **Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso.** São Paulo – SP, 2005.