

Interferência da estocagem de sangue contendo os anticoagulantes K_2 EDTA e K_3 EDTA na análise automatizada do hemograma

Interference of blood storage containing K_2 EDTA and K_3 EDTA anticoagulants in the automated analysis of the hemogram

Vânia Cristina J. Riba; Patrick Gabriel S. Pessini; Camila S. Chagas; Daniel S. Neves; Thaís M. Gascón; Fernando Luiz A. Fonseca; Emerson B. Silva

Faculdade de Medicina do ABC, Santo André, São Paulo, Brasil.

RESUMO

Introdução: O presente trabalho avaliou as possíveis alterações em diferentes parâmetros do hemograma, como contagem de eritrócitos totais, leucócitos, hematócrito e plaquetas, em relação a diferentes tempos de armazenamento da amostra em ambiente refrigerado e em temperatura ambiente quanto aos efeitos dos anticoagulantes, que podem afetar a variabilidade de seus resultados laboratoriais. **Objetivo:** Comparar as variações presentes na análise do hemograma automatizado, colhido nos tubos contendo ácido etilenediamino tetra-acético dipotássico (K_2 EDTA) e tripotássico (K_3 EDTA). **Material e métodos:** Estudo comparativo realizado para contagem diferencial/absoluta dos leucócitos, determinação de hemoglobina e contagem de hemácias e plaquetas, com o intuito de investigar o anticoagulante que traz menos interferentes na análise do hemograma de acordo com sua estocagem – temperatura de 2°C a 8°C e 25°C (temperatura ambiente) e janela de tempo entre a coleta e a análise de 4, 6 e 8 horas. Essas determinações foram realizadas após homogeneização de cinco a oito inversões pelo aparelho automatizado Sysmex XN-1000™. Dezoito amostras biológicas de sangue venoso de pacientes com idade superior a 18 anos, sem doenças hematológicas, foram coletadas e utilizadas como controle. **Resultados:** Os resultados foram avaliados por meio de uma análise estatística descritiva, com comparação de médias através da análise de variância (Anova). De acordo com os resultados apresentados, não ocorreram alterações nos parâmetros ao refrigerar a amostra no período de 8 horas, com exceção da contagem de plaquetas, que apresentou oscilações quando armazenadas sob refrigeração de 2°C a 8°C. **Conclusão:** Na temperatura ambiente, os parâmetros volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e hematócrito apresentaram diferença estatística significativa.

Unitermos: ácido edético; contagem de células sanguíneas; anticoagulantes.

ABSTRACT

Introduction: The present work evaluated the possible alterations in different hemogram parameters as: total erythrocyte count, hematocrit, leukocyte, and platelet count, against different times of sample storage at refrigerated and room temperature towards the effects of anticoagulants that can affect the variation of laboratory results. **Objective:** Compare variations in automated hemogram analysis, with blood collected in tubes containing dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid (K_2 EDTA) and tripotassium ethylenediaminetetraacetic acid (K_3 EDTA). **Material and methods:** A comparative study was carried out on differential leukocyte count and absolute leukocyte count, hemoglobin determination and red blood cell count and platelet count. Therefore, it researches the anticoagulant that brings less interferences in hemogram analysis according to storage, at temperatures from 2°C to 8°C and 25°C (room temperature), and the time window between collection and analysis (4, 6, and 8 hours). These determinations were carried out after homogenization from five to eight inversions using the automated device Sysmex XN-1000™. Eighteen biological samples of venous blood were collected, used as control, from patients aged 18 and over that did not have any hematologic disease.

Results: The results were evaluated through descriptive statistical analysis, and comparison of mean values through the analysis of variance (Anova). In accordance with the results presented, there were not changes in the parameters by refrigerating the sample in the period of 8 hours, except for the platelet count, presenting oscillations when stored under refrigeration from 2°C to 8°C. **Conclusion:** At room temperature, the parameters mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), and hematocrit presented significant statistical differences.

Key words: edetic acid; blood cell count; anticoagulants.

RESUMEN

Introducción: Este trabajo evaluó los posibles cambios en diferentes parámetros del hemograma, como conteo de eritrocitos totales, leucocitos, hematocrito y plaquetas, con respecto a diferentes tiempos de almacenamiento de la muestra en ambiente refrigerado y temperatura ambiente en cuanto a los efectos de los anticoagulantes, que pueden afectar los resultados del análisis de laboratorio. **Objetivo:** Comparar los cambios presentes en el análisis del hemograma automatizado, recogido en tubos que contienen ácido etilendiaminotetraacético dipotásico (K_2 EDTA) y tripotásico (K_3 EDTA). **Material y método:** Estudio comparativo realizado para conteo diferencial/absoluto de leucocitos, determinación de hemoglobina y conteo de eritrocitos y plaquetas, a fin de investigar el anticoagulante que trae menos interferencia en el análisis del hemograma según su almacenamiento – temperatura de 2°C a 8°C y 25°C (temperatura ambiente) y ventana de tiempo entre recuento y análisis de 4, 6, y 8 horas. Se realizaron las determinaciones luego de homogeneizar las muestras con cinco a ocho inversiones en el analizador automatizado Sysmex XN-1000^{PM}. Dieciocho muestras de sangre venosa de pacientes mayores de 18 años, sin enfermedades hematológicas, fueron recogidas y usadas como control. **Resultados:** Se evaluaron los resultados mediante un análisis descriptivo, con comparación de medias por análisis de la varianza (Anova). De acuerdo con los resultados, no hubo cambios en los parámetros enfriándose la muestra en el período de 8 horas, a excepción del recuento de plaquetas, que presentó oscilaciones bajo refrigeración (2°C-8°C). **Conclusión:** A temperatura ambiente, los parámetros volumen corpuscular medio (VCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y hematocrito presentan diferencia estadísticamente significativa.

Palabras clave: ácido edético; recuento de células sanguíneas; anticoagulantes.

INTRODUÇÃO

O hemograma é o exame laboratorial mais solicitado na prática médica: possibilita a avaliação dos principais componentes do sangue periférico, fundamentando qualquer avaliação hematológica para diagnóstico de doenças⁽¹⁾.

Durante a investigação das funções e disfunções do sangue, é imprescindível que, dentro do possível, os laboratórios não forneçam resultados imprecisos devido a erros operacionais; portanto, deve-se ter cuidado com os erros na metodologia utilizada para obter esse material. O método de coleta, armazenamento e transporte de amostras para o laboratório influencia diretamente o resultado, comprometendo a confiabilidade dos dados e prejudicando a conduta do profissional de saúde para realizar o diagnóstico⁽²⁾.

Atualmente, muitos laboratórios clínicos estão equipados com equipamentos automatizados modernos, capazes de processar

grandes quantidades de amostras hematológicas de modo eficiente e em tempo oportuno. É indispensável que as amostras sejam coletadas corretamente e que o anticoagulante adequado seja utilizado, para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos pelo equipamento⁽³⁾.

O anticoagulante comumente utilizado é o ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) – um composto orgânico com função quelante de íons metálicos que, no sangue, atua sequestrando o cálcio plasmático disponível, inibindo a cascata de coagulação. É o anticoagulante de escolha, pois não altera a morfologia eritrocitária, tornando-se ideal para uso em hematologia^(3,4).

Existem três formas disponíveis de EDTA: dissódico (Na_2 EDTA), dipotássico (K_2 EDTA) e tripotássico (K_3 EDTA)⁽⁴⁾. O K_3 EDTA é colocado dentro do tubo na forma líquida, o que causa uma leve diluição da amostra. Em casos de armazenamento prolongado ou alteração na relação anticoagulante/sangue utilizando o K_3 EDTA,

pode-se notar alteração no tamanho médio do eritrócito. O K_2 EDTA é dispensado em pó, portanto, não causa variação no volume/diluição da amostra coletada, tornando-se a opção recomendada para a coleta de amostras^(3,4).

Diversos fatores pré-analíticos alteram o resultado obtido após a análise. Alguns estudos afirmam que o excesso de EDTA pode diminuir o valor do hematócrito e do volume corpuscular médio (VCM) devido à hipertonicidade do plasma com concentração iônica aumentada, causando aumento da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), sem alterar a concentração de hemoglobina; essas alterações são mais pronunciadas com o uso do K_3 EDTA⁽⁴⁻⁷⁾.

Goossens *et al.* (1991)⁽⁶⁾ relatam que amostras com altas concentrações de K_3 EDTA apresentam uma queda acentuada na contagem de leucócitos (menos de 50% do valor original, 24 horas após coleta do material).

A coleta de sangue com volume menor que o recomendado de K_3 EDTA (proporção de 0,1 ml de EDTA para 5 ml de sangue) aumenta a incidência de artefatos; é possível observar crenação e esfereação eritrocitária⁽¹⁻⁴⁾.

O tempo e a temperatura de armazenamento também são importantes. Dalanhol *et al.* (2010)⁽¹⁾ declaram que refrigerar amostras atrasam alterações, mas não impede seu acontecimento e que amostras mantidas em temperatura ambiente ou aquecidas apresentam alterações mais precoces. Eles também afirmam que as amostras de sangue em temperatura ambiente por mais de 12 horas ou na geladeira por mais de 24 horas causam elevação indevida do VCM e do hematócrito, além de diminuição da CHCM com níveis normais de hemoglobina.

O objetivo deste trabalho é avaliar as possíveis alterações em diferentes parâmetros do hemograma em diferentes tempos de armazenamento e em temperatura ambiente e refrigerada, e como os efeitos das variações de anticoagulantes EDTA (K_2 e K_3) podem afetar a variabilidade de seus resultados laboratoriais. Para tanto, foi realizado um estudo comparativo entre contagem diferencial/absoluta de leucócitos, determinação de hemoglobina e contagem de hemácias e plaquetas para evidenciar qual anticoagulante utilizado apresenta menor taxa de interferência nos resultados da análise do hemograma.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo experimental comparativo, para o qual foram coletadas 18 amostras biológicas de sangue venoso como controle, em indivíduos com idade superior a 18 anos sem doenças hematológicas. Os pacientes foram informados sobre

o estudo e consentiram a coleta das amostras. As coletas foram realizadas em triplicatas para cada participante: 4 ml de sangue conforme procedimento padrão, utilizando agulhas estéreis com adaptadores para coleta a vácuo em tubos de hemograma contendo os anticoagulantes K_2 EDTA e K_3 EDTA, por meio de punção venosa. As amostras sanguíneas foram divididas em dois grupos de armazenamento: temperatura refrigerada (2°C a 8°C) e temperatura ambiente (25°C), com as seguintes análises:

- parâmetros eritrocitários – contagem de eritrócitos (RBC), hemoglobina, hematócrito, VCM, hemoglobina corpuscular média (HCM) e CHCM;
- contagem de leucócitos totais (WBC), incluindo neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos;
- contagem de plaquetas. As análises foram realizadas em diferentes tempos de estocagem: 4, 6 e 8 horas.

Essas análises foram realizadas após homogeneização, invertendo as amostras oito vezes, usando o aparelho automatizado Sysmex Xn-1000™ e o método de citometria de fluxo para contagem de eritroblastos (NRBC); realização da diferencial de 6 partes, que inclui o parâmetro de granulócitos imaturos.

Entre as 18 amostras biológicas coletadas, seis foram armazenadas à temperatura ambiente (25°C); as outras 12 foram armazenadas sob refrigeração (2°C a 8°C). As amostras foram processadas no contador hematológico nos tempos de 4, 6 e 8 horas após a coleta.

Os resultados foram avaliados por meio de uma análise estatística descritiva e com comparação de médias pela análise de variância (Anova).

RESULTADOS

A contagem de eritrócitos apresentou um perfil com pouca variação, tanto para amostras refrigeradas quanto para em temperatura ambiente. Entretanto, amostras refrigeradas com K_2 EDTA apresentaram aumento da média na quarta hora, variando, em média, 4,24 milhões de eritrócitos/ μ l (**Tabela 1**).

O K_3 EDTA em temperatura ambiente alcançou maior estabilidade, da primeira à quarta hora; a média foi de 12,6 g/dl, caindo para 12,57 g/dl na sexta hora; estabilidade foi observada até a oitava. O K_2 EDTA refrigerado entre 2°C e 8°C apresentou elevação mínima da quarta à sexta hora (12,42 a 12,47 g/dl). Não foi possível observar variação estatística para nenhuma das temperaturas (Tabela 1).

TABELA 1 – Perfil médio dos parâmetros do eritrograma, conforme temperatura e tempo de estocagem, Contagem de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito

Parâmetros	Tempo de estocagem	TAK2	TAK3	REFK2	REFK3
		Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Eritrócitos (10 ⁶ /mm ³)	1 h	4,25 ± 0,44	4,43 ± 0,36	4,46 ± 0,18	4,5 ± 0,21
	4 h	4,24 ± 0,41	4,41 ± 0,32	4,47 ± 0,2	4,51 ± 0,21
	6 h	4,25 ± 0,42	4,43 ± 0,34	4,49 ± 0,22	4,5 ± 0,21
	8 h	4,21 ± 0,4	4,41 ± 0,34	4,48 ± 0,19	4,5 ± 0,24
Hemoglobina (g/dl)	1 h	12,13 ± 1,42	12,6 ± 1,15	12,97 ± 0,38	13,1 ± 0,44
	4 h	12,17 ± 1,43	12,57 ± 1,14	13,03 ± 0,49	13,13 ± 0,49
	6 h	12,23 ± 1,39	12,57 ± 1,21	13,1 ± 0,44	13,2 ± 0,36
	8 h	12,23 ± 1,42	12,57 ± 1,12	13,07 ± 0,38	13,2 ± 0,53
Hematócrito (%)	1 h	36,77 ± 4,07	37,7 ± 3,36	38,3 ± 2,26	38,13 ± 2,48
	4 h	37,4 ± 4,03	38,17 ± 3,35	38,47 ± 2,55	38,33 ± 2,57
	6 h	37,53 ± 4,29	38,4 ± 3,7	38,9 ± 3,3	38,23 ± 2,48
	8 h	37,53 ± 4,11	38,5 ± 3,6	38,53 ± 2,55	38,23 ± 2,83

TAK2: temperatura ambiente, K₂EDTA; TAK3: temperatura ambiente, K₃EDTA; REFK2: temperatura refrigerada K₂EDTA; REFK3: temperatura refrigerada K₃EDTA; DP: desvio padrão.

Na análise de hematócrito, para amostras à temperatura ambiente, a média variou de 36,77% a 38,5%. Um aumento a partir da quarta hora de armazenamento foi observado, o que resultou em diferença estatística. Nas amostras refrigeradas, isso não ocorreu, resultando em pequena variação das médias: 37,15% a 37,55% (Tabela 1).

Os resultados das análises obtidas para os valores médios de VCM foram os mesmos para ambas as temperaturas na primeira hora de armazenamento (85 fl a 87 fl). O perfil médio à temperatura ambiente variou de 85 fl a 89 fl, até a quarta hora de armazenamento.

Nas amostras refrigeradas, houve variação utilizando o K₂EDTA; foi observada diminuição na média da quarta para a sexta hora, ocorrendo elevação novamente na oitava hora. As amostras refrigeradas utilizando K₃EDTA apresentaram estabilidade durante todo tempo de armazenamento (85 fl). Devido a variações mínimas, não foi observada diferença estatística (Tabela 1).

Na análise do perfil médio do CHCM, verificou-se variação notável em relação à temperatura ambiente. Na primeira hora, a média obtida foi de 33%; na quarta hora, variou para 32%, se estabilizando até a sexta hora em 33%. Com amostras refrigeradas, a variação foi entre 32% e 34%; o K₂EDTA foi estabilizado a partir da quarta hora em 33%, até a oitava hora de armazenamento (Tabela 1).

No resultado do perfil médio do HCM, os valores médios foram homogêneos, com pouca variação para as duas temperaturas, em média, de 28 pg a 29 pg durante o período de 8 horas; houve diferença estatística significativa (Tabela 1).

Em relação à contagem de leucócitos totais, as amostras mantidas à temperatura ambiente com K₂EDTA apresentaram variação após 6 horas de armazenamento, com média de 8,48 leucócitos/mm³, sofrendo elevação na oitava hora, com 8,54 leucócitos/mm³. O K₃EDTA não sofreu variação significativa, permanecendo com 8,55-8,65 leucócitos/mm³ durante todo o tempo de armazenamento. As amostras refrigeradas sofreram variação de 8,38-8,33 leucócitos/mm³, sem diferença estatística. (Tabela 2).

TABELA 2 – Perfil médio dos parâmetros do leucograma, conforme temperatura e tempo de estocagem

Parâmetros	Tempo de estocagem	TAK2	TAK3	REFK2	REFK3
		Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Leucócito (10 ³ /mm ³)	1 h	8,51 ± 3,66	8,55 ± 3,72	6,8 ± 4,28	7,02 ± 4,66
	4 h	8,61 ± 3,68	8,56 ± 3,69	6,92 ± 4,1	7,07 ± 4,57
	6 h	8,48 ± 3,72	8,6 ± 3,7	6,82 ± 4,18	6,99 ± 4,54
	8 h	8,54 ± 3,64	8,65 ± 3,75	6,79 ± 3,9	7,02 ± 4,42
Neutrófilo (/mm ³)	1 h	4,79 ± 2,45	4,9 ± 2,5	5,82 ± 0,95	6,51 ± 0,98
	4 h	4,92 ± 2,57	4,94 ± 2,51	5,96 ± 0,72	6,53 ± 0,88
	6 h	4,82 ± 2,49	4,94 ± 2,53	5,86 ± 0,91	6,53 ± 1,06
	8 h	4,83 ± 2,43	5 ± 2,53	5,84 ± 0,78	6,42 ± 1,01
Linfócito (/mm ³)	1 h	4,79 ± 2,45	2,92 ± 0,89	3,21 ± 0,49	3,52 ± 0,65
	4 h	4,92 ± 2,57	2,9 ± 0,89	3,15 ± 0,53	3,54 ± 0,69
	6 h	4,82 ± 2,49	2,92 ± 0,88	3,2 ± 0,6	3,5 ± 0,59
	8 h	4,83 ± 2,43	2,94 ± 0,89	3,2 ± 0,58	3,47 ± 0,64
Monócito (/mm ³)	1 h	0,57 ± 0,24	0,54 ± 0,25	0,61 ± 0,18	0,7 ± 0,2
	4 h	0,63 ± 0,31	0,53 ± 0,23	0,63 ± 0,12	0,69 ± 0,16
	6 h	0,58 ± 0,23	0,56 ± 0,23	0,59 ± 0,15	0,67 ± 0,2
	8 h	0,58 ± 0,25	0,53 ± 0,25	0,62 ± 0,14	0,7 ± 0,16
Eosinófilo (/mm ³)	1 h	0,14 ± 0,06	0,15 ± 0,09	0,19 ± 0,01	0,2 ± 0,02
	4 h	0,14 ± 0,09	0,15 ± 0,08	0,18 ± 0,02	0,18 ± 0,02
	6 h	0,14 ± 0,08	0,14 ± 0,07	0,19 ± 0	0,18 ± 0,02
	8 h	0,15 ± 0,08	0,15 ± 0,08	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,02
Basófilo (/mm ³)	1 h	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01
	4 h	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,02
	6 h	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,03	0,05 ± 0,001	0,07 ± 0,03
	8 h	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,02

TAK2: temperatura ambiente, K₂EDTA; TAK3: temperatura ambiente, K₃EDTA; REFK2: temperatura refrigerada K₂EDTA; REFK3: temperatura refrigerada K₃EDTA; DP: desvio padrão.

Na análise de neutrófilos, observou-se variação nos resultados das amostras à temperatura ambiente, mais especificamente o K₂EDTA; foi possível observar elevação no número de neutrófilos após 4 horas de armazenamento, passando de 4,79 a 4,92 neutrófilos/mm³. Da sexta à oitava hora, o valor foi estabilizado em 4,83 neutrófilos/mm³. Nas amostras com K₃EDTA à temperatura ambiente, não foi observada variação significativa na média durante todo o período de armazenamento (variação de 4,9 a 5 neutrófilos/mm³). Nas amostras refrigeradas, não foram observadas oscilações significativas entre as médias; os valores variaram entre 5,53 e 7,49 neutrófilos/mm³ (Tabela 2).

No perfil médio da contagem de linfócitos, houve variação entre as temperaturas de armazenamento. No K₂EDTA refrigerado, foi observada diminuição contínua de linfócitos na primeira hora de armazenamento (2,98 linfócitos/mm³) até a sexta hora (2,9 linfócitos/mm³); na oitava hora, a média foi de 2,94 linfócitos/mm³. O K₃EDTA à temperatura ambiente mostrou-se homogêneo, não apresentando variações consideráveis em sua média (2,92 a 2,94 linfócitos/mm³). As amostras refrigeradas apresentaram maior estabilidade, sem variações significativas em suas médias (2,87 e 4,17 linfócitos/mm³) (Tabela 2).

Na análise dos monócitos, observou-se uma pequena variação nas amostras mantidas à temperatura ambiente, utilizando, especificamente, K₂EDTA; houve aumento da média após 4 horas de armazenamento (0,57 para 0,63 monócitos/mm³). A partir da sexta hora, leve diminuição foi verificada; houve estabilidade até a oitava hora de armazenamento (0,58 monócitos/mm³). O K₃EDTA à temperatura ambiente apresentou elevação na sexta hora de armazenamento (0,54 para 0,56 monócitos/mm³), retornando à sua média inicial de 0,54 monócitos/mm³ na oitava hora. As amostras refrigeradas não apresentaram variação relevante, sem resultados estatisticamente significantes (Tabela 2).

Na contagem de eosinófilos, a variação de todas as temperaturas foi constante durante todo o tempo de armazenamento, sem apresentar diferença estatística significativa (Tabela 2).

Analisando a contagem de basófilos, a variação em relação à temperatura ambiente e à refrigerada foi homogênea durante todo o período de armazenamento, não resultando em diferença estatística significativa (Tabela 2).

Variação significativa foi observada na contagem de plaquetas. À temperatura ambiente, a média variou de 260.000 a 278.000/mm³. Sob refrigeração, houve diminuição, variando de 272.000 a 196.000/mm³. Essa diminuição ocorreu entre a primeira e a quarta hora, passando de 272.000 para 200.000/mm³ e chegando a 196.000/mm³ até a oitava hora de armazenamento; isso gerou diferença estatística para as duas temperaturas (**Figura**).

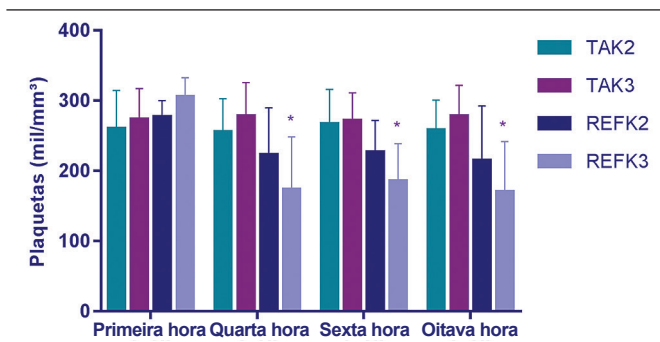


FIGURA – Perfil médio dos parâmetros do plaquetograma, conforme temperatura e tempo de estocagem

DISCUSSÃO

Neste estudo, não houve significância estatística na contagem de eritrócitos entre os grupos K₂EDTA e K₃EDTA e, após o período de 8 horas, não foi possível observar alterações quantitativas nem morfológicas nas células. Nos casos em que se excede a concentração de EDTA, é possível observar crenação e esferação acentuada em poucas horas^(2, 4, 8).

Ao analisar resultados obtidos de amostras em temperatura ambiente, verificamos que o hematócrito se elevou devido ao aumento no volume eritrocitário, demonstrando variação estatística significativa. Porém, as amostras sob refrigeração mantiveram seus valores estáveis. Em diferentes estudos, os valores de hematócrito e VCM sofreram elevação concomitante^(1, 4, 9, 10). Nos valores de CHCM de amostras em temperatura ambiente, houve leve oscilação após a quarta hora, retornando à estabilidade após a sexta hora. Segundo De Baca *et al.* (2006)⁽³⁾, a diminuição do CHCM pode ocorrer ao submetemos amostras a períodos prolongados de armazenamento.

Embora tenha sido observada oscilação nos valores obtidos de CHCM, essa diferença não ocorreu nos valores de concentração de hemoglobina; houve estabilidade em ambos os anticoagulantes, em todas as temperaturas.

Quanto aos resultados de HCM, houve estabilidade nos resultados, sem ocasionar relevância estatística para as amostras durante o período analisado.

Os resultados da contagem de leucócitos não apresentaram diferença estatística significativa para nenhuma das temperaturas durante todo o período analisado. Sabe-se que a contagem de leucócitos pode ser alterada em excesso de EDTA devido à diluição da amostra, afetando a contagem diferencial. Esse problema é contornado ao realizar a análise dentro de 24 horas após o armazenamento sob refrigeração^(2, 8, 11).

Os resultados da contagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos não apresentaram diferença estatística, porém foi observada maior estabilidade em amostras refrigeradas.

Estudos mostram que neutrófilos e monócitos são mais sensíveis e linfócitos são mais estáveis no armazenamento com EDTA^(4, 12).

Os resultados obtidos no plaquetograma apresentaram uma diminuição progressiva à temperatura ambiente, mas sem diferença estatística, enquanto as amostras refrigeradas apresentaram diminuição considerável na contagem de plaquetas, com diferença estatística importante, que pode ter sido causada por aglutinação espontânea.

Amostras coletadas com EDTA podem sofrer aglutinação espontânea ou satelitismo plaquetário – aglutinação EDTA-dependente por anticorpos de imunoglobulina da classe M (IgM) ou da classe G (IgG), que possuem maior poder de aglutinação quando mantidos em baixas temperaturas –, diminuindo seus valores, o que impede uma análise mais fidedigna⁽¹³⁾.

CONCLUSÃO

Ao avaliar os resultados obtidos, foi possível verificar que a maioria dos parâmetros do hemograma permanece estável quando as amostras são refrigeradas de 2°C a 8°C e, quando armazenadas à temperatura ambiente, a variação é mais acentuada. As amostras refrigeradas não sofreram alterações significantes nos parâmetros quando analisadas em um período de 8 horas, exceto as análises plaquetárias, nas quais houve alterações relevantes.

Fatores da fase pré-analítica, como temperatura e tempo de armazenamento, podem interferir na variabilidade dos parâmetros do hemograma na rotina de um laboratório clínico, bem como acarretar resultados equivocados.

A correta relação anticoagulante/sangue é um fator muito importante para obter resultados com menores oscilações para os parâmetros hematológicos analisados.

De acordo com o presente estudo e com diversos outros consultados, concluímos que o armazenamento de amostras de sangue não interfere na contagem de hemácias e leucócitos, nem na dosagem de concentração de hemoglobina. Entretanto, torna-se inviável avaliar outros parâmetros após o período de 8 horas, independentemente da forma de armazenamento. Nota-se também uma diminuição acentuada na contagem plaquetária; portanto, é necessário contar e analisar os parâmetros de coagulação o mais rápido possível após a recepção da amostra.

A escolha do K₂EDTA é recomendada, pois evita chances de coleta com quantidade incorreta de sangue que interfere na relação anticoagulante/sangue, como geralmente ocorre quando o K₃EDTA é utilizado. Devemos sempre respeitar a proporção correta de anticoagulante/sangue no momento da coleta e evitar a análise do hemograma após longos períodos de armazenamento da amostra, visando manter a integridade e as características morfológicas do sangue, proporcionando um resultado confiável para o diagnóstico.

REFERÊNCIAS

1. Dalanhol M, Barros M, Mazuchelli Jr, et al. Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico nas determinações do hemograma automatizado. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2010; 32(1): 16-22.
2. Bain BJ, Lewis SM, Bates I. *Hematologia prática de Dacie e Lewis*. 9 ed. Porto Alegre: Artmed; 2006.
3. de Baca M, Gulati G, Kocher W, Schwarting R. Effects of storage of blood at room temperature on hematologic parameters measured on Sysmex XE-2100. *Lab Medicine*. 2006; 37(1): 28-36.
4. Patel N. Why is EDTA the anticoagulant of choice for hematology use? *BD Diagnostic*. 2009.
5. Oliveira AC, Ribeiro F, José D, et al. Concentração de anticoagulante, tempo e temperatura de armazenagem sobre os parâmetros hematológicos no hemograma automatizado. *Ciência Rural*. 2010; 40: 2521-6.
6. Goossens W, van Duppen V, Verwilghen RL. K₂- or K₃-EDTA: the anticoagulant of choice in routine haematology? *Clin Lab Haematol*. 1991; 13(3): 291-5.
7. da Silva PH, Alves HB, Comar SR, Henneberg R, Merlin JC, Stinghen ST. *Hematologia laboratorial. Teoria e procedimentos*. Porto Alegre: Artmed; 2016.
8. Bain BJ. *Células sanguíneas: um guia prático*. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2016.
9. Joshi A, McVicker W, Segalla R, et al. Determining the stability of complete blood count parameters in stored blood samples using the Sysmex XE-5000 automated haematology analyser. *Int J Lab Hematol*. 2015; 37(5): 705-14.
10. Seniv L, Simionatto M, Cruz BR, Borato DCK. Análise da temperatura, do tempo e da relação sangue/anticoagulante no hemograma. *Rev Bras Análises Clínicas*. 2017; 49(2): 181-8.
11. Ribeiro WR. *Hematologia: um guia para introdução ao estudo*. 1 ed. Goiânia: Nacional; 1996.
12. Reardon DM, Warner B, Trowbridge EA. EDTA, the traditional anticoagulant of haematology: with increased automation is it time for a review? *Med Lab Sci*. 1991; 48(1): 72-5.
13. Oliveira RAG. *Hemograma: como fazer e interpretar*. São Paulo: LPM; 2007.

AUTOR CORRESPONDENTE

Emerson B. Silva  0000-0003-0953-479X
e-mail: emerson.silva@fmabc.br



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.