

GERALDA DE FÁTIMA GUERRA LAGES

**CONTROLE DE QUALIDADE EM HEMATOLOGIA:
ENFOQUE PARA APARELHOS
AUTOMATIZADOS**

**Belo Horizonte
Faculdade de Farmácia da UFMG
2010**

GERALDA DE FÁTIMA GUERRA LAGES

**CONTROLE DE QUALIDADE EM HEMATOLOGIA:
ENFOQUE PARA APARELHOS
AUTOMATIZADOS**

Monografia apresentada ao II Curso de Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do certificado de Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria das Graças Carvalho

**Belo Horizonte
Faculdade de Farmácia da UFMG
2010**

L174c Lages, Geralda de Fátima Guerra.
Controle de qualidade em hematologia: enfoque para aparelhos automatizados / Geralda de Fátima Guerra Lages. - 2010.
45 f. : il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria das Graças Carvalho.
Monografia apresentada ao II Curso de Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do certificado de Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas.

1. Hematologia. 2. Hemograma - Qualidade. I. Carvalho, Maria das Graças. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD: 616.07561



FOLHA DE APROVAÇÃO

“CONTROLE DE QUALIDADE EM HEMATOLOGIA. ENFOQUE
PARA APARELHOS AUTOMATIZADOS”.

GERALDA DE FÁTIMA GUERRA LAGES

Monografia apresentada e aprovada em 1/10/2010 pela Comissão
Examinadora constituída pelos seguintes membros:

Maria das Graças Carvalho
Profa. Dra. Maria das Graças Carvalho (Orientadora)

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Fac. Farmácia –
UFMG

Januária Fonseca Matos
Me. Januária Fonseca Matos

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Fac. Farmácia –
UFMG

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante em minha vida.

À UFMG, pelas oportunidades oferecidas de crescimento profissional.

À professora e amiga Graça, que não apenas me orientou neste estudo, mas sempre foi minha grande incentivadora e companheira ao longo destes vinte anos de convivência na disciplina de Hematologia desta Faculdade.

Aos estudantes Marcos Vinícius, Ludmilla e Letícia, pelas contribuições neste trabalho.

À Fabíola pela amizade e companheirismo.

Aos amigos da Hematologia, Luci, Mariza, Márcio e Lauro, pelo companheirismo e incentivo.

A meus pais, Didina e Maurílio, pelo exemplo de vida e pela grande sabedoria.

Ao Elison, meu esposo, que sempre me incentivou nos estudos.

Aos meus filhos, Letícia, Vítor e André, e ao meu netinho Gabriel, pelas alegrias.

SUMÁRIO

LISTA DE-FIGURAS	5
LISTA DE QUADROS	5
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	6
RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 TERMOS USUALMENTE UTILIZADOS NO CONTEXTO DA QUALIDADE	12
3 CONTROLES INTERNO E EXTERNO DA QUALIDADE	16
3.1 CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE	16
3.1.1 Limites aceitáveis de erro.....	17
3.1.2 A monitorização do processo	17
3.2 CONTROLE EXTERNO DA QUALIDADE	23
4 CONTADORES HEMATOLÓGICOS	24
4.1 PRINCÍPIOS DOS ANALISADORES HEMATOLÓGICOS	24
4.2 CONTROLE DE QUALIDADE NA FASE ANALÍTICA	27
4.2.1 Calibração dos contadores automatizados.....	27
4.2.2. Monitoramento da qualidade dos analisadores.....	28
4.3 CRITÉRIOS DE GARANTIA DE QUALIDADE	29
4.3.1 Uso de sangue controle comercial	29
4.3.2 Análise de repetição de amostras de sangue fresco	30
4.3.3 Cálculo das médias móveis de Bull	30
4.3.4 Delta checks.....	30
4.3.5 Controle externo da qualidade	31
4.3.6 Revisão de lâminas	31
4.4 CAUSAS DE ERROS EM CONTADORES HEMATOLÓGICOS	32
4.4.1 Plaquetas.....	32
4.4.2 Reticulócitos	35
4.4.3. Leucócitos.....	36
4.4.4 Erros nas contagens diferenciais	37
4.4.5 Eritrócitos.....	39
4.4.6 Hemoglobina.....	40
4.4.7 Hematócrito.....	41
4.4.8 Índices hematimétricos.....	41
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Área sob a curva de Gauss.....	19
Figura 2 – Aplicação da Regra 1_{3s}.....	20
Figura 3 – Aplicação da Regra 2_{2s}.....	20
Figura 4 – Aplicação da Regra 4_{1s}.....	21
Figura 5 – Aplicação da Regra R_{4s}.....	21
Figura 6 – Aplicação da Regra $10x$.....	22
Figura 7 – Histogramas realizados em aparelhos pelo princípio Coulter.....	25
Figura 8 – Alterações do histograma de plaquetas.....	35
Figura 9 – Histograma dos leucócitos e filme sanguíneo correspondente.....	37
Figura 10 – Histograma de leucócitos e filme sanguíneo correspondente.....	38
Figura 11 – Histograma de hemácias com filme sanguíneo correspondente.....	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Causas de erros em contagens diferenciais.....	38
Quadro 2 – Causas de contagens espúrias de hemácias.....	39

LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPLC	Boas práticas de laboratório clínico
CAP	College of American Pathologists
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CIQ	Controle interno da qualidade
CTLE	Comissão técnica de laboratórios e ensaios
CV	Coeficiente de variação
DICQ	Departamento de inspeção e credenciamento da SBAC
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HDW	<i>Hemoglobin distribution width</i>
IEC	International Electrotechnical Commission
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
ISLH	International Society for Laboratory Hematology
ISO	International Organization for Standardization
LAE	Limites aceitáveis de erro
LC	Limites de controle
LEP	Erro permitido de Tonks
NBR	Norma brasileira
NM	Norma mercosul
ONA	Organização Nacional de Acreditação
PALC	Programa de acreditação para laboratórios clínicos
PELM	Proficiência em ensaios laboratoriais
PNCQ	Programa Nacional de Controle de Qualidade
POP	Procedimento operacional padrão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RDW	Red blood cell distribution width
SBAC	Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
SBPC	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica
VCM	Volume corpuscular médio
VCS	Volume, condutividade e dispersão de luz
VPM	Volume plaquetário médio

RESUMO

A qualidade é o componente mais importante para que as empresas ofereçam produtos capazes de satisfazer as necessidades dos usuários. Dentro desse contexto, é essencial que os laboratórios de análises clínicas implementem um sistema de gestão da qualidade para controlar seus processos. Para isto, deve-se utilizar ferramentas que identifiquem as não conformidades, por meio da participação em ensaios de proficiência, uso de controles comerciais e das médias móveis, além do estabelecimento de critérios de aceitabilidade dos erros aleatórios e sistemáticos e da implementação de ações corretivas sempre que se fizer necessário. O hemograma é um exame mais frequentemente solicitado nas consultas médicas, sendo indispensável como auxílio no diagnóstico das doenças crônicas, infecciosas, emergenciais, cirúrgicas e no acompanhamento de quimioterapias e radioterapias. A realização do hemograma automatizado aumentou a capacidade de produção do laboratório, com maior rapidez e confiabilidade nos laudos emitidos. A garantia da qualidade da realização desses hemogramas tem como objetivo satisfazer o cliente pela prevenção de não conformidades em todas as fases do processo, incluindo a pré-analítica, analítica e pós-analítica. Apesar do crescente avanço tecnológico voltado aos laboratórios clínicos, ainda surgem dúvidas por parte dos profissionais da área, principalmente no que se refere à confiabilidade dos resultados. É imprescindível que os profissionais tenham pleno conhecimento dos analisadores que utilizam, que saibam interpretar corretamente os *flags* emitidos pelos aparelhos e que recorram a métodos de referência com análise criteriosa do filme sanguíneo para emissão correta dos laudos hematológicos. Apesar da maior rapidez dos contadores automáticos, o papel do analista clínico na identificação e interpretação de quadros hematológicos característicos de uma gama de doenças, bem como de situações de monitoração de pacientes sob tratamento, é de fundamental importância e insubstituível pelas modernas tecnologias.

Palavras-chave: qualidade, hemograma automatizado, precisão, exatidão.

ABSTRACT

Quality is the most important issue for companies that want to meet the needs of their customers. Within this context, it is important that clinical analysis laboratories apply a management of quality system to control their processes by using tools that can identify the non conformities such as performance of proficiency testing, use of trade controls, moving averages, in addition to establishing criteria for acceptability of random and systematic errors and making remedial actions whenever it becomes necessary. The blood counting is the most frequently complementary test requested during medical consultations and it is indispensable as an aid in the diagnosis of chronic disease in addition to infectious, emergency and surgical diseases, and monitoring of chemotherapy and radiotherapy. The automated blood counting has increased production capacity of the labs, allowing greater speed and reliability of the reports. The quality assurance of blood countings aims to satisfy the customer by preventing non-conformities at all stages of the processes, including pre-analytical, analytical and post analytical. Despite the growing technological advance on clinical laboratories procedures some professionals are still concern, particularly on the reliability of the results. Because of that it is essential that professionals are fully aware of the analyzers they use, allowing the correct interpretation of the apparatus flags and making use of reference methods reading carefully the blood film for correct emission of the hematological report. Despite the greater speed of the automatic counters, the role of the clinical analyst in identifying and interpreting the hematological pictures of a range of diseases as well as situations of monitoring patients under treatment, is fundamental and irreplaceable by modern technologies.

Key-words: quality, automated blood counting, precision, accuracy.

1 INTRODUÇÃO

Com a introdução das linhas de montagens nas indústrias, a qualidade dos produtos começou a ser controlada e os produtos não conformes, desprezados. Nas décadas de 1930 e 1940, a variabilidade na produção passou a ser considerada uma consequência natural deste processo.

Na década de 1950, surgiu o conceito de Garantia da Qualidade. A partir deste marco, as empresas passaram a se preocupar com o produto e não somente com os processos envolvidos na produção. Com a evolução natural dos conceitos, surgiu a preocupação com a Política da Qualidade, o Sistema da Qualidade, a Gestão da Qualidade Total e o Aprimoramento Contínuo da Qualidade, entre outros.

Na área de Laboratório Clínico, a primeira iniciativa interlaboratorial do Controle da Qualidade foi realizada nos Estados Unidos, em 1947, por Belk e Sunderman, os quais empregaram um *pool* de soro humano para comparar as análises de um grupo de laboratórios (LOPES, 2003). Em 1950, Levey e Jennings aprimoraram o controle interno, já praticado na época, por meio da representação gráfica dos valores de cada dia. Estas atividades foram designadas como Programas de Controle de Qualidade.

Em 1967, foi criada a primeira lei que regulamentou laboratórios médicos nos Estados Unidos. Nessa época, foi criado o College of American Pathologists.

As normas ISO (*International Organization for Standardization*) entraram em vigor em 1987, sendo que as da série ISO 9000 têm sido adotadas em várias instituições de saúde. Trata-se de um conjunto de normas aceitas internacionalmente, cujo escopo define o que deve ser contemplado no sistema de qualidade da instituição, sendo revisadas a cada cinco anos.

No Brasil, em 1995, os laboratórios clínicos foram incluídos no INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) e, dessa forma, tiveram acesso às normas das Boas Práticas de Laboratórios, publicadas pela *Organization for Economic Cooperation and Development*. Estas normas foram aperfeiçoadas e adaptadas aos laboratórios clínicos pela Comissão Técnica de Laboratórios e Ensaios e transformadas em Boas Práticas de Laboratórios Clínicos e de Patologia (ROTH, 1998).

O Brasil participa da ISO por meio da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), que é uma instituição sem fins lucrativos e reconhecida pelo governo brasileiro como Fórum Nacional de Normalização. Os laboratórios de Análises Clínicas

e de Patologia Clínica podem ser certificados e/ou acreditados a partir do atendimento às normas de certificação ou de acreditação, respectivamente. A acreditação de laboratórios clínicos, realizada segundo os requisitos da ABNT NBR ISO/IEC 17025 ou segundo os requisitos da ABNT NM ISO 15189 e a certificação ABNT NBR ISO 9001, asseguram a existência de Sistema de Gestão da Qualidade nas organizações. São aceitas internacionalmente como evidência da credibilidade da gestão empresarial (OLIVEIRA, [s.d.]).

Existem no Brasil outros programas de acreditação no âmbito das Análises Clínicas. Estes apresentam competência para avaliação de instituições segundo guias nacionais e internacionais, buscando reconhecer a competência técnica e gerencial para a realização de tarefas específicas. Estes programas de acreditação compreendem:

- DICQ/SBAC (Departamento de Inspeção e Credenciamento da SBAC)
Consiste em um programa que visa a melhoria da qualidade dos laboratórios clínicos, e se encontra na versão 2007. Tem parceria com a ONA (Organização Nacional de Acreditação)
- PALC/SBPC (Programa de Acreditação para Laboratórios Clínicos da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica)
Baseado nas normas ISO e está na terceira edição;
- ONA
É uma organização não governamental, de direito privado, sem fins lucrativos, de interesse coletivo e de caráter normativo. É credenciada pelo Ministério da Saúde e tem parceria com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Os principais objetivos são: implementar e implantar, em nível nacional, um processo permanente de melhoria da qualidade da assistência à saúde e estimular os serviços de saúde a atingirem padrões de qualidade mais elevados dentro do processo de acreditação.

Em 2005, a ANVISA publicou a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC 302:2005). Trata-se de um regulamento técnico específico para os laboratórios clínicos, que abrange normas da qualidade e disciplina a organização, além da padronização de procedimentos e condições, sob as quais os exames são planejados, registrados, realizados, monitorados e assinados. Além disso, as amostras e os dados devem ser conservados e arquivados. O item 8 deste regulamento refere-se à exigência do laboratório clínico de assegurar a confiabilidade dos serviços prestados por meio de

controles interno e externo de qualidade (ensaio de proficiência). Atualmente, tornou-se possível o cliente acompanhar a evolução de conceitos da Qualidade, ter expectativas e buscar empresas que satisfaçam seus interesses, que podem mudar de acordo com suas necessidades.

Neste trabalho teve-se como objetivo elaborar uma abordagem geral sobre o Controle de Qualidade em Hematologia, incluindo uma ampla revisão sobre o tema, com enfoque na sua aplicação em contadores hematológicos.

2 TERMOS USUALMENTE UTILIZADOS NO CONTEXTO DA QUALIDADE

Com o objetivo de fornecer ao leitor subsídios que possam facilitar o entendimento do assunto em pauta, são apresentados abaixo vários termos usualmente empregados dentro do atual contexto.

- **Qualidade**

Consiste no conjunto de características de uma entidade que lhe confere a capacidade de satisfazer as necessidades explícitas e implícitas dos clientes (NBR ISO 8402). Sabe-se que a qualidade é cada vez mais uma preocupação do fabricante de bens e serviços, pois oferecer produtos com qualidade tornou-se obrigação do fabricante para com os usuários, sendo também uma exigência do cliente. As empresas que se preocupam em se manterem competitivas e produtivas implantam o Sistema da Qualidade. Denning desenvolveu e difundiu a idéia de que a melhoria da qualidade reduz o desperdício e aumenta a produtividade, conforme descrito por BASQUES (2009).

- **Política da qualidade**

Intenções e diretrizes globais de uma organização, relativas à qualidade, formalmente expressas pela alta direção.

- **Gestão da qualidade**

É implementada por meio de planejamento, controle, garantia e melhoria da qualidade. Quanto ao planejamento, é definido a partir da missão do laboratório, incluindo seus clientes e serviços. O controle consiste na parte da Gestão da Qualidade, focada no atendimento aos requisitos da Qualidade, permitindo avaliar a estabilidade de um método analítico em relação a parâmetros de precisão e exatidão. Já a garantia tem por objetivo satisfazer o cliente pela prevenção de não conformidades em todas as fases do processo (pré-analítico, analítico e pós-analítico). Finalmente, a melhoria da Qualidade inclui medidas que visem atender aos requisitos da qualidade e está relacionada à eficácia, eficiência e rastreabilidade.

- **Requisitos**

Necessidade ou expectativas que são expressas, geralmente, de forma implícitas ou obrigatória.

- **Erros nos laboratórios**

A implantação de um sistema de qualidade no laboratório tem por objetivo garantir a qualidade de todos os resultados obtidos na rotina diária, bem como tomar providências para eliminar as causas das não conformidades encontradas, por meio de ações corretivas e medidas para evitar uma nova ocorrência das não conformidades.

A detecção de erros nas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica decorre de atividades de monitorização, da precisão e da exatidão exercida pelo controle de qualidade. Esta baseia-se no ensaio de amostras de controle e no tratamento dos dados obtidos, utilizando ferramentas estatísticas (ROTH, 1998), incluindo:

- **Precisão**

Consiste na dispersão entre resultados obtidos pela aplicação de um procedimento experimental várias vezes, sob condições descritas (ISO);

- **Imprecisão**

É o coeficiente de variação dos resultados de um conjunto de medições em replicata;

- **Exatidão**

Consiste na propriedade do método analítico de fornecer resultados do analito próximos de seu valor real;

- **Inexatidão**

Consiste na diferença numérica entre a média de um conjunto de medidas e o valor verdadeiro. É também chamado de *bias*;

- **Erro aleatório**

Consiste em um erro analítico positivo ou negativo, cuja magnitude não pode ser prevista com segurança. Este erro pode ser minimizado, mas não pode ser eliminado totalmente. Encontra-se associado à imprecisão e é avaliado pelo desvio padrão;

- **Desvio padrão (S)**

Consiste na dispersão em torno da média. Quanto maior for a variabilidade em torno da média, maior será o desvio padrão. O cálculo de seu valor é fornecido pela fórmula:

$$\text{Desvio padrão} = \sqrt{\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2/n}{n-1}}$$

x : variável avaliada

n : número total de valores

- **Coeficiente de variação (CV)**

Consiste no desvio padrão, expresso em porcentagem do valor médio, cuja fórmula é:

$$CV = \frac{s}{X_m} \times 100 \quad \text{em que } s: \text{ desvio padrão}$$

X_m : média aritmética

- **Erro sistemático**

Consiste na avaliação da inexatidão do ensaio, medido como *bias*. Pode ser praticamente eliminado com o uso de calibradores aferidos por métodos definitivos ou de referência. O erro sistemático apresenta uma direção única sendo positivo ou negativo. Sua magnitude pode ser conhecida previamente e resulta da inexatidão do processo analítico;

- **Erro total**

Somatório dos erros aleatório e sistemático. Constitui o melhor índice da qualidade dos resultados gerados por um método analítico (BASQUES, 2009).

- **Erro grosseiro**

Os resultados analíticos estão sujeitos a erros grosseiros ou enganos que introduzem um grande desvio nos resultados. Este tipo de erro é aleatório e gera resultados discrepantes, muitas vezes, devido a enganos ou trocas que não são considerados erros estatísticos;

- **Erros na etapa pré-analítica**

Estão incluídos, neste caso, erros na solicitação de exames, erros na identificação do paciente, escrita ilegível e falta de orientação ao paciente quanto ao preparo para coleta da amostra. Podem ocorrer também erros na coleta da amostra, identificação errônea do paciente, uso de anticoagulantes inadequados, hemólise e lipemia, transporte e armazenamento incorretos, entre outros;

- **Erros na etapa analítica**

Incluem-se trocas de amostras, erros de pipetagem causados por pipetas não aferidas e vidrarias mal lavadas, além de reagentes e padrões contaminados, mal conservados ou vencidos e erros nos preparos de reagentes. Presença de lipemia, hemólise, icterícia e uso de medicamentos, equipamentos não calibrados, erros no protocolo de automação, sujeira no sistema ótico, temperatura de ambiente não adequada, erros nos cálculos e em unidades,

constituem outros exemplos de interferentes na etapa analítica;

- **Erros na etapa pós-analítica**

Identificação errada do paciente, transcrição incorreta de dados, resultado ilegível, unidades incorretas e erros de interpretação de resultados, constituem exemplos de erros com repercussão na etapa pós-analítica.

3 CONTROLES INTERNO E EXTERNO DA QUALIDADE

3.1 CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE

O CIQ (controle interno da qualidade) tem por finalidade os seguintes aspectos:

- garantir a reprodutibilidade;
- verificar a calibração dos sistemas analíticos;
- indicar o momento de se promover ações corretivas quando surgir uma não conformidade.

A maior utilidade do CIQ é a prevenção da deterioração do desempenho do sistema analítico. O laboratório deve implantar a análise crítica dos resultados do CIQ em todos os sistemas analíticos, todos os dias em que realiza análise de pacientes.

As amostras-controle utilizadas devem ser comerciais e regularizadas junto à ANVISA, de acordo com a legislação vigente. Formas alternativas descritas na literatura podem ser usadas desde que permitam a avaliação da precisão do sistema analítico (ANVISA, 2005).

Com o objetivo de assegurar o desempenho do sistema analítico, os programas de acreditação exigem registros de rejeição de resultados. As amostras controles devem ser analisadas da mesma forma que as dos pacientes, a fim de refletir o mais fielmente possível o que ocorre com elas nas situações de rotina de análise..

O desempenho dos métodos analíticos pode ser monitorado por meio do ensaio de amostras-controle com valores conhecidos juntamente aos ensaios das amostras dos pacientes. Os materiais de controle são disponibilizados com valores médios esperados e a faixa de variação proposta pelo fabricante. O ideal é que o laboratório tenha suficiente número de dados para calcular estatisticamente seus próprios valores médios e o desvio padrão analítico. A média e o desvio padrão utilizados devem ser obtidos por dosagem de cada lote do controle para cada sistema analítico, no próprio laboratório.

Os controles produzidos na forma líquida são mais estáveis para uso diário, por não precisarem de reconstituição e de manter a estabilidade por 30 dias. É importante que os laboratórios utilizem no mínimo dois controles com níveis diferentes de concentração para que as informações tenham validade na verificação da manutenção dos níveis desejáveis de controles Os resultados dos controles são plotados em um gráfico controle e comparados com “os limites aceitáveis de erro” para aquele analito (BASQUES, 2009).

3.1.1 Limites aceitáveis de erro

Para estabelecer os próprios limites, os laboratórios devem realizar dosagens dos materiais de controle, no mínimo 20 para cada analito, utilizando sua instrumentação e metodologia. Os resultados das dosagens são usados para calcular as médias e o desvio padrão, servindo também para definir os limites de controle.

Num procedimento para definir os limites da variabilidade máxima empregam-se os *limites de erro permitido de Tonks* (LEP). Esses limites são calculados a partir dos intervalos de referência de um método e considera-se que, para um método ser capaz de distinguir entre valores normais e anormais, a grandeza da variabilidade analítica não pode ser maior do que um quarto do intervalo de referência do método.

$$\text{LEP} = [(\frac{1}{4} \times \text{intervalo de referência}) / (\text{média do intervalo})] \times 100$$

Exemplo: cálculo do LEP para hemoglobina

Valor de referência para homens: 12,8 a 17,8 g/dL

$$\text{LEP} = \frac{1}{4} \times \frac{5}{15,3} \times 100 = 8,2\%$$

3.1.2 A monitorização do processo

Os procedimentos de monitorização do processo envolvem três etapas que devem ser corretamente seguidas para se obter resultados efetivos, compreendendo: ensaio dos materiais controle, registro dos resultados e das ocorrências observadas e critérios de aceitabilidade.

- **Ensaio dos materiais de controle**

Os procedimentos de ensaio dos materiais de controle devem seguir algumas normas para que os resultados possam ser utilizados como informações confiáveis. Nas Boas Práticas de Laboratórios Clínicos, sugere-se usar dois controles com níveis diferentes de concentração. O emprego de dois níveis de controle permite verificar a linearidade da resposta do procedimento de medição, sendo também possível observar o desempenho em uma faixa mais ampla do sistema analítico. Além disso, como a probabilidade da detecção de erros depende do número de controles ensaiados, quando são utilizados dois controles por corrida analítica, maior será a probabilidade de detecção de erros. Quando a estabilidade do procedimento é menor do que 24 horas, é necessário que os controles sejam ensaiados a cada período de perda de estabilidade.

No primeiro dia de trabalho do mês, deve-se iniciar as medidas dos controles e dosar o mesmo lote de controles durante todo o mês, o que significa que não se deve trocar os lotes de controle durante um mês de trabalho. Tendo em vista que os materiais de controle devem ser ensaiados em todas as corridas analíticas, deve ser feito um planejamento de sua aquisição para que não seja necessária uma troca de lotes durante um mês de uso.

Antes de se introduzir um novo lote de controles na rotina, deve-se fazer a determinação das médias e do desvio padrão para cada analito, dosando os novos lotes em paralelo no mês que anteceder a troca. Dessa forma, quando um novo lote de controles é introduzido, já se tem conhecimento da média e do desvio padrão de cada analito para permitir a definição dos novos limites de controle. Além do mais, deve-se criar um POP (Procedimento Operacional Padrão) que estabeleça as normas de armazenamento, preparação e utilização dos materiais de controle, os critérios para a introdução de novos lotes de controles e reagentes, com definição dos limites de controle.

- **Registro dos resultados e das ocorrências**

Um dos componentes de fundamental importância dos sistemas da qualidade refere-se ao registro dos resultados e das ocorrências. Uma dessas formas de registro é o chamado gráfico de controle de Levey-Jennings. Este, inicialmente utilizado nas indústrias, foi adaptado para uso em laboratório clínico e hoje constitui uma ferramenta imprescindível na implantação do Controle de Qualidade. Tais gráficos têm uma forma simples de lançar os resultados obtidos nas dosagens diárias dos controles, consistindo em uma extensão da distribuição gaussiana e representa a área sob a curva de Gauss compreendida entre mais ou menos 3 desvios(s), como se mostra na Figura 1.

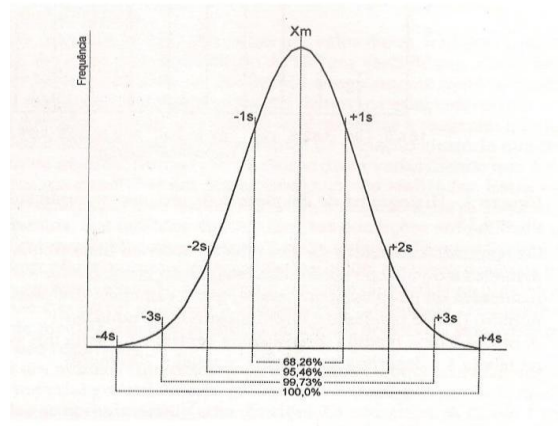


Figura 1 – Área sob a curva de Gauss
 Fonte: BASQUES (2009)

Deve-se analisar a amostra controle para o analito a ser controlado, no mínimo 20 dias diferentes. Então calcula-se a média e o desvio padrão a partir dos resultados obtidos e estabelecem-se os LAE ou limites de controle (LC). Uma vez determinados os limites para os resultados de controle, definem-se os critérios para aceitação ou rejeição dos resultados de controle de forma a reduzir a “falsa rejeição”. Utilizam-se as regras múltiplas de Westgard como ferramentas deste processo. Estas consistem em uma combinação de critérios de decisão ou regras de controle para julgar quando uma corrida está dentro ou fora de controle. Em seguida, são apresentadas as cinco diferentes regras para julgar a aceitabilidade de uma corrida analítica.

- **Regra 1_{2s} (para um controle)**

É aplicada quando o valor do controle excede um dos limites de $X_m \pm 2s$. Esse é o sinal de alerta do mapa de controle e indica que inspeções adicionais devem ser realizadas nos dados do controle. É interpretada como um aviso de possíveis problemas sem necessidade de repetição da bateria de exames.

A violação de qualquer uma das regras a seguir indica que o processo perdeu a estabilidade. A regra violada ajuda na identificação do tipo de erro responsável pela perda da estabilidade do processo analítico, devendo-se, então, procurar suas causas e introduzir a ação corretiva necessária. A aplicação da regra 1_{3s} (para um controle) é ilustrada na Figura 2.

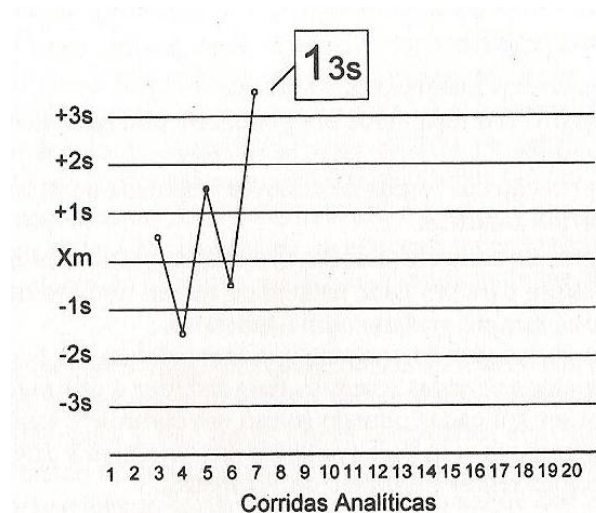


Figura 2 – Aplicação da Regra 1_{3s}
Fonte: BASQUES (2009)

Os resultados devem ser rejeitados quando um único valor do controle excede a média $\pm 3s$. Essa regra indica um erro aleatório.

A aplicação da Regra 2_{2s} (dois controles) é mostrada a seguir, na Figura 3.

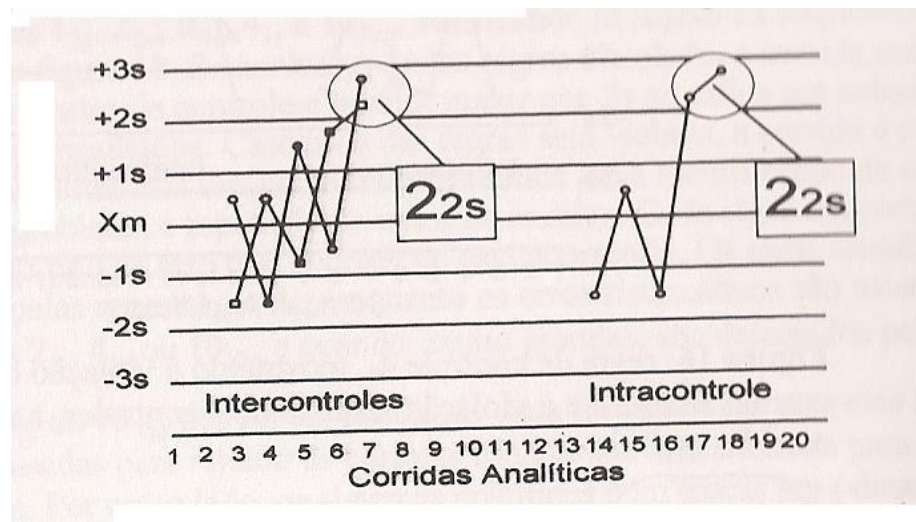


Figura 3 – Aplicação da Regra 2_{2s}
Fonte: BASQUES (2009)

Essa regra é violada quando, em duas corridas analíticas consecutivas, o valor do controle excede a média $\pm 2s$, no mesmo sentido. Essa regra é indicadora de um erro sistemático. Pode ser testada “intercontroles”, ou seja, dois níveis de controle pertencente á mesma corrida analítica, ou pode ser testada “intracontrole” em duas corridas simultaneamente do mesmo nível de controle.

A aplicação da Regra 4_{1s} é mostrada, na Figura 4.

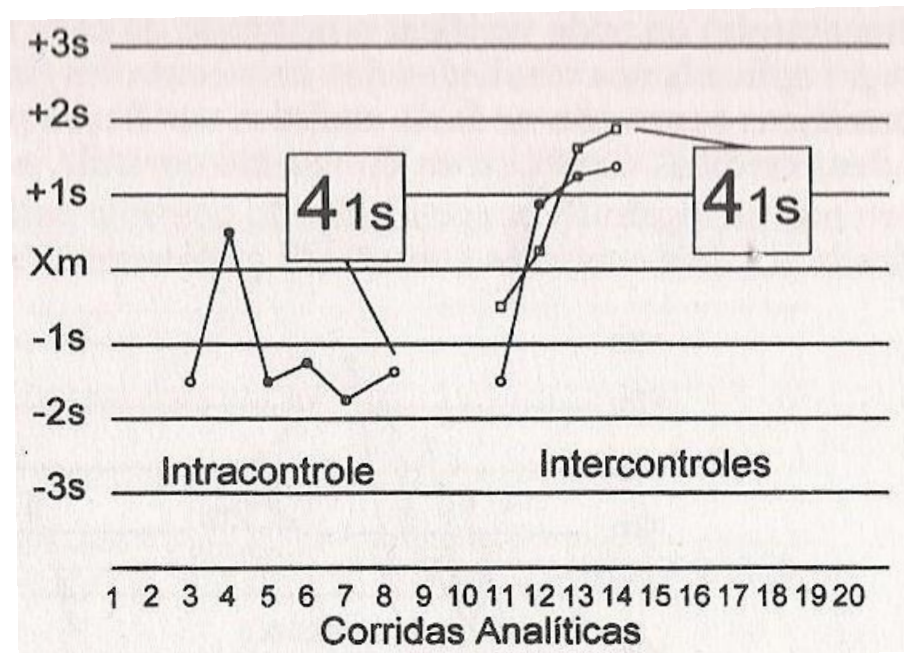


Figura 4 – Aplicação da Regra 4_{1s}
 Fonte: BASQUES (2009)

Essa regra indica que os resultados devem ser rejeitados quando quatro valores consecutivos do controle excedem o mesmo limite de $X_m + 1s$ ou $X_m - 1s$. Pode ser testada para um nível de controle (quatro resultados seguidos ou para dois níveis de controle ou dois resultados seguidos de cada nível de controle). Essa regra é indicadora da ocorrência de um erro sistemático.

A aplicação da Regra R_{4s} (dois controles) é exemplificada, na Figura 5.

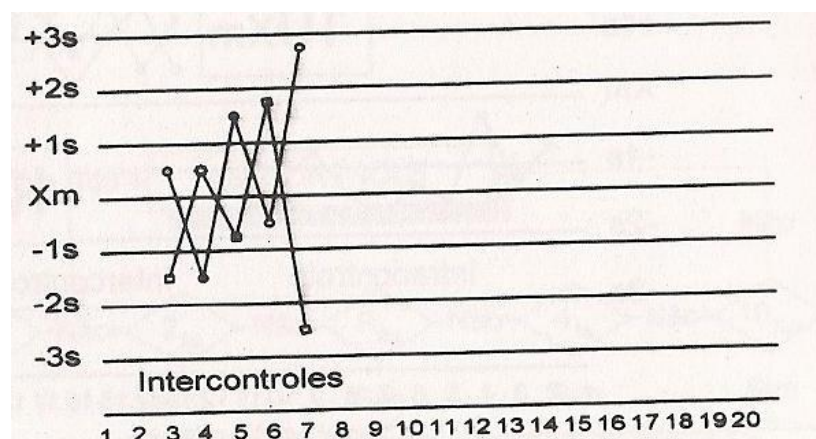


Figura 5 – Aplicação da Regra R_{4s}
 Fonte: BASQUES (2009)

Essa regra é violada quando um resultado de controle excede a $X_m + 2s$ e o outro resultado excede a $X_m - 2s$, na mesma corrida, numa faixa maior 4s. É indicadora de um erro aleatório. Na Figura 6 exemplifica-se a aplicação da Regra 10x (um ou dois controles).

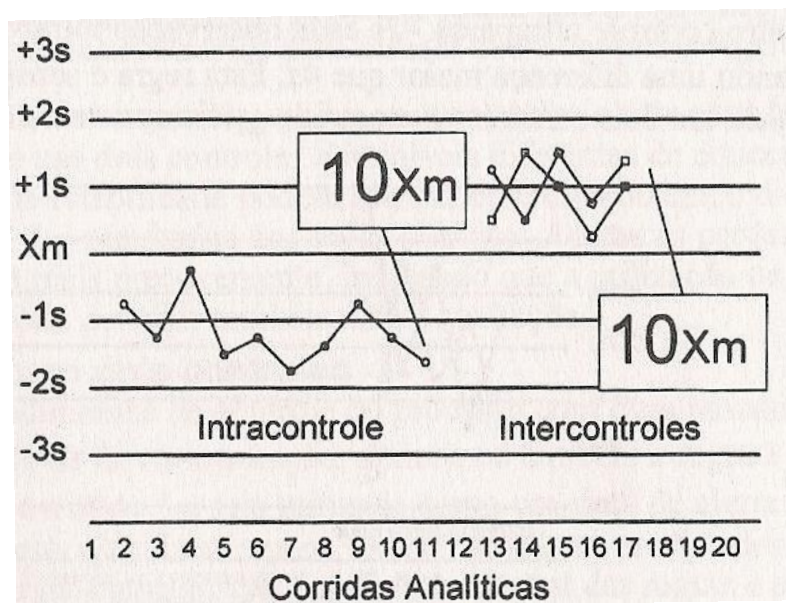


Figura 6 – Aplicação da Regra 10x
Fonte: BASQUES (2009)

Essa regra é indicadora de um erro sistemático e é violada quando 10 resultados de controles consecutivos ficam do mesmo lado da média. Podem ser testados 10 resultados seguidos de um nível de controle ou, para dois níveis, cinco resultados seguidos de cada nível de controle totalizando dez resultados de um mesmo lado da média. Essa regra é indicadora de um erro sistemático.

Com o uso de dois controles, as perdas de estabilidade podem ser detectadas mais precocemente, indicando que a utilização de somente um nível de controle pode permitir também falsas aceitações.

- **Crítérios de aceitabilidade**

Uma inspeção cuidadosa dos mapas de controles permite identificar a regra de controle que foi violada, que atua como indicativo do tipo de erro. Grandes dificuldades podem ser encontradas para identificar a causa de um erro aleatório, porque esse tipo de erro não pode ser previsto ou quantificado como um erro sistemático. Muitas das causas de erro aleatório podem ser localizadas por inspeção física do sistema analítico durante as operações.

3.2 CONTROLE EXTERNO DA QUALIDADE

O controle externo da qualidade consiste na avaliação da exatidão ou acurácia dos exames de um laboratório clínico a partir de comparações interlaboratoriais. Os ensaios de proficiência têm como função primordial fornecer dados que auxiliem na obtenção do desempenho ideal. Também têm o papel de eliminar as fontes de não-conformidades existentes, atuando de forma decisiva na melhoria contínua na qualidade dos participantes. É necessário que as fontes de erros sejam identificadas e que seja incentivada a implantação de procedimentos adequados para assegurar que os recursos materiais e humanos do laboratório clínico sejam utilizados para melhorar o atendimento aos pacientes e fornecer dados válidos aos médicos.

Os ensaios de proficiência utilizam amostras controle de valores desconhecidos para serem dosados pelos laboratórios clínicos e, posteriormente, os resultados são comparados com outros que utilizam a mesma metodologia. Recomenda-se que nenhuma amostra-controle seja tratada ou examinada de modo especial, devendo ser introduzida na rotina do laboratório clínico com se fosse a amostra de um paciente (ANVISA, 2005).

O laboratório clínico deve registrar os resultados do Controle Externo da Qualidade, inadequações, investigação de causas e ações tomadas para os resultados rejeitados ou nos quais a proficiência não foi obtida, (ANVISA, 2005).

Atualmente, os laboratórios clínicos contam com dois provedores de programas de proficiência, o PELM (proficiência em ensaios laboratoriais) da SBPC e o PNCQ (Programa Nacional de Controle de Qualidade) da SBAC. A participação dos laboratórios em ensaios de proficiência passou a ser uma exigência da ANVISA, a partir da publicação da RDC 302:2005. Essa resolução define os requisitos para o funcionamento de laboratórios clínicos e postos de coleta, públicos e privados, que realizem exames de patologia ou análises clínicas e citologia.

4 CONTADORES HEMATOLÓGICOS

A segunda metade do século 20 foi marcante pelo avanço tecnológico e, conseqüentemente, o desenvolvimento de modernos contadores automatizados de células sanguíneas tornou-se uma realidade, com aplicação na grande maioria dos laboratórios clínicos. Esses analisadores combinam métodos de alta tecnologia e precisão para análises quantitativas de milhares de células. A avaliação de índices hematológicos e a visualização de histogramas permitem ao profissional qualificado e experiente, que exerce suas funções dentro de padrões de controle de qualidade satisfatórios, emitir laudos com grande confiabilidade (HOFFMANN et al., 2007).

4.1 PRINCÍPIOS DOS ANALISADORES HEMATOLÓGICOS

Os contadores atuais têm múltiplas procedências, mas todos usam a espectrofotometria como princípio na dosagem de hemoglobinas (FAILACE, 2009). A identificação e a análise dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas podem ser realizadas por vários princípios, listados a seguir.

- **Impedância elétrica**

Conhecido como princípio Coulter, foi criado por Wallace Coulter, em 1956, e revolucionou a hematologia moderna, ao permitir realizar a contagem dos elementos figurados do sangue com grande precisão, confiabilidade e rapidez (EDITORA MÉDICA COLOMBIANA, 1995). Baseia-se na medida e na contagem dos pulsos de impedância, causada pelos glóbulos sanguíneos ao cruzarem um orifício pelo qual flui uma corrente contínua (BACALL, 2009). Esses pulsos são amplificados e contados em um volume de sangue pré-determinado. A amostra aspirada é distribuída em dois compartimentos. No primeiro, são analisadas células com volume superior a 36 fentolitros e entre 2 e 20 fentolitros, correspondendo a eritrócitos e plaquetas respectivamente (EDITORA MÉDICA COLOMBIANA, 1995). O registro da amplitude e do número de partículas contadas fornece o volume corpuscular médio (VCM), que, multiplicado pelo número de hemácias, fornece o hematócrito. Esses equipamentos fornecem a leucometria e o número de hemácias, plaquetas, hematócrito, hemoglobina e os índices hematimétricos. O coeficiente de variação para essas contagens é de 2% a 5% (BACALL, 2009). No segundo compartimento, os eritrócitos são hemolisados, deixando

livres os leucócitos e a hemoglobina. A contagem global de leucócitos é feita por impedância elétrica e a contagem diferencial de leucócitos usando esse princípio possibilita a identificação de três tipos celulares:

- linfócitos ou células pequenas;
- células de tamanho médio como monócitos, eosinófilos, basófilos, blastos e outros precursores como promielócitos e mielócitos;
- granulócitos ou grandes células.

Os analisadores desse tipo fornecem hemogramas de boa qualidade e são satisfatórios para laboratórios com até 100 amostras por dia.

São emitidos alarmes sempre que há contagens aberrantes, superposição de curvas de populações celulares, principalmente em casos de microcitose acentuada, esquisócitos, hemácias nucleadas, lise incompleta de eritrócitos ou plaquetas gigantes, exigindo análise criteriosa dos resultados para emissão de laudos (FAILACE, 2009). Exemplos de histogramas, valendo apenas do princípio Coulter, podem ser observados na Figura 7.

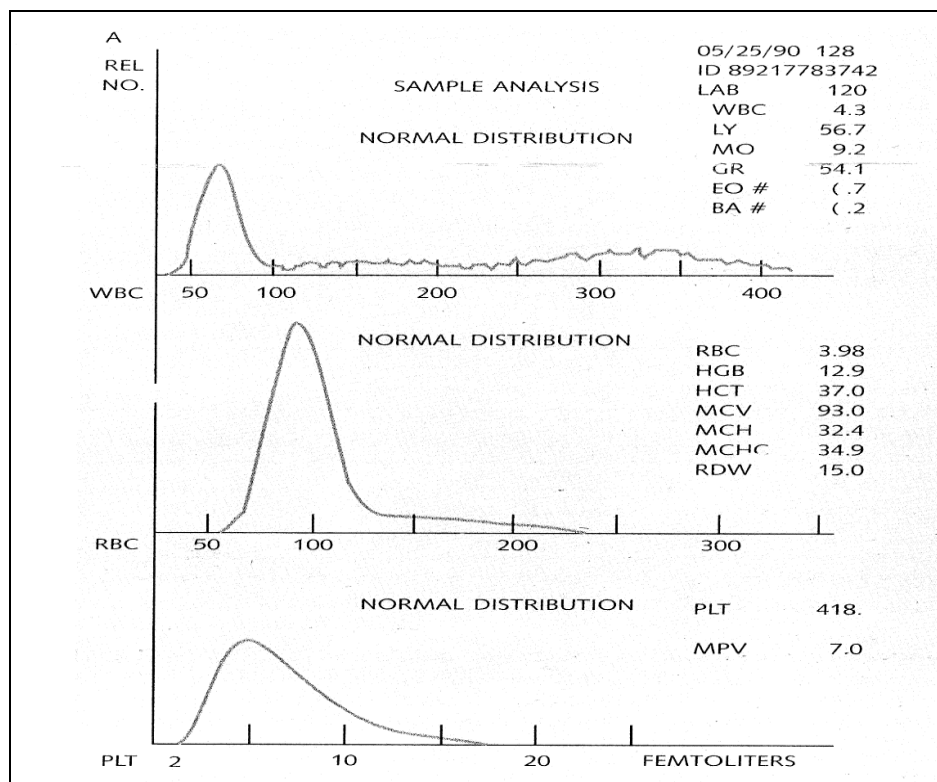


Figura 7 – Histogramas realizados em aparelhos pelo princípio Coulter

Fonte: FAILACE (2009).

- **Dispersão ótica**

Conhecida como tecnologia VCS (volume, condutividade e dispersão de luz), essa metodologia baseia-se nas características físicas dos leucócitos, depois da remoção parcial do citoplasma para identificação e contagem de cinco tipos celulares. Essa contagem é realizada por três determinações simultâneas, (EDITORA MÉDICA COLOMBIANA, 1995).

- impedância com corrente eletromagnética de baixa frequência, que mede o verdadeiro volume celular;
- condutividade com corrente eletromagnética de alta frequência (radiofrequência), dependente da estrutura celular, relação núcleo/citoplasma, densidade nuclear e granularidade. Faz distinção entre linfócito e basófilo;
- dispersão ótica (scatter): em que as células passam por um feixe de laser e são classificadas segundo suas características celulares internas e granulosidade. É fundamental para diferenciação entre granulócitos, como eosinófilos e neutrófilo

As contagens diferenciais estendidas podem incluir células grandes imaturas e linfócitos atípicos. Alguns instrumentos como o Bekman Coulter apresentam dois canais. A contagem de leucócitos e basófilos é feita por impedância após lise diferencial. Outros elementos são identificados no segundo canal por uma combinação de impedância, citoquímica e absorvância. Os leucócitos são classificados de acordo com sua afinidade pelo corante (negro-clorazol). Existem ainda os aparelhos baseados na tecnologia do princípio Coulter combinada a outros princípios, como:

- coloração vital do RNA, distinguindo os reticulócitos;
- avaliação da fluorescência em dois comprimentos de onda após marcação do RNA com derivados da fluoresceína, identificando os reticulócitos e do DNA, identificando as células viáveis e os eritroblastos (FAILACE, 2009);
- incorporação da tecnologia de laser com argônio e de anticorpos monoclonais específicos, ligados a fluorocromos, importante em casos de plaquetopenia, doenças linfoproliferativas e na quantificação de subtipos celulares, como células linfocitárias auxiliares (CD₄/Helper) e supressores (CD₈/Helper) (BACALL, 2009).
- cella Vision

É um sistema digital computadorizado que realiza a contagem diferencial de leucócitos mediante análise morfológica automatizada de filmes de sangue periférico escaneados. Fornece uma pré-classificação das células brancas,

vermelhas e de plaquetas para posterior confirmação do analista clínico ou outro profissional competente. Segundo BRIGGS et al. (2009), esse sistema apresenta grande precisão e exatidão, quando comparado à contagem diferencial manual, além da rapidez para a realização da contagem. Suas principais vantagens são a possibilidade de acesso remoto a imagens dos diferentes filmes sanguíneos, a verificação de resultados emitidos e a correção dos mesmos, se for o caso, além do compartilhamento de dados com profissionais em outros laboratórios. Isso permite maior interação entre equipes interlaboratoriais em casos de dúvidas na emissão de laudos hematológicos. Constitui também uma excelente ferramenta que pode ser utilizada nos laboratórios para educação continuada e padronização dos resultados nos laboratórios.

O desenvolvimento tecnológico dos equipamentos, o aprimoramento dos tipos de alerta que sugerem revisão do esfregaço de sangue, contribuíram para a melhoria dos laudos liberados. Contudo, variações na sensibilidade dos contadores, principalmente aqueles com manutenção deficiente, podem acarretar variações do volume aspirado ou da velocidade do fluxo. Os diluentes devem ser livres de partículas e fornecer uma contagem basal menor que 50 partículas no volume medido. Além do mais, a manutenção e o monitoramento dos equipamentos com recalibrações periódicas devem ser realizados de acordo com o programa de qualidade ou quando houver troca de componentes (BAIN & BATES, 2006).

4.2 CONTROLE DE QUALIDADE NA FASE ANALÍTICA

4.2.1 Calibração dos contadores automatizados

De acordo com a *International Committee for Standardization in Hematology*, os métodos para calibração de analisadores hematológicos podem ser:

- sangue normal, com valores estabelecidos para hemoglobina, hematócrito, hemácias, leucócitos e plaquetas por método de referência;
- calibrador estável (sangue preservado ou um substituto);
- calibrador comercial com valores para cada tipo de instrumento.

Os materiais de controle comercial, apesar de não serem suficientemente estáveis e de não terem valores confirmados pelo método de referência, são utilizados na hematologia como calibradores. São de custo alto e, muitas vezes, a demora para

adquirir esses controles pode inviabilizar, temporariamente, seu uso rotineiro nos laboratórios.

Para utilizar sangue fresco como calibrador, deve-se coletar 4 mL de amostra de sangue de doadores saudáveis com anticoagulante K₂EDTA (ácido etilenoaminotetracético dipotássico) e, em seguida, proceder à determinação em duplicata da hemoglobina pelo método cianometahemoglobina, do hematócrito em quaduplicata (método manual), além da contagem de hemácias, leucócitos e plaquetas em duplicata em aparelho de impedância.

4.2.2 Monitoramento da qualidade dos analisadores

Para se determinar o desempenho analítico de um contador, deve-se avaliar a linearidade, a precisão e a exatidão, cujos conceitos são apresentados abaixo:

- linearidade: representa o intervalo de referência confiável de determinado parâmetro;
- precisão: um método é preciso quando o valor encontrado para o coeficiente de variação for próximo da média e, quanto mais próximo, mais preciso será o método. As contagens eletrônicas são reprodutivas, mas podem variar de um instrumento para outro mesmo em modelos diferentes do mesmo fabricante. Alguns analisadores apresentam, em seus programas de qualidade, estimativas do CV dos controles, que devem ser checados diariamente. A maior fonte de imprecisão em contador provém de amostras contendo poucas partículas, células como no caso das plaquetopenias, leucopenias, nas contagens de basófilos e eosinófilos ou ainda quando a hemoglobina for menor que 4,0 g/dL (OLIVEIRA, 2007);
- exatidão: é a capacidade do aparelho em fornecer resultados próximos do valor real. Para verificação da acurácia de um método, deve ser feita a comparação dos resultados de amostras realizadas em dois métodos distintos, um de referência e outro em análise. Por meio de ferramentas da estatística, como o da regressão linear entre dois métodos, calcula-se o coeficiente de correlação de Pearson. O desempenho de aparelhos utilizados com a mesma finalidade devem ser comparados a cada seis meses. Essa é uma exigência dos programas de acreditação (FERREIRA et al., 2002). A aceitabilidade é julgada a partir da análise dos coeficientes de correlação (r) superior a 0,9.

A falta de precisão e exatidão em analisadores pode ser causada por "coincidência", isto é, duas células são contadas como única, pela recirculação de células já contadas, por aglutinação de eritrócitos e pela contagem de bolhas, além de gotículas de lipídeos, microrganismos ou partículas estranhas, que podem ser contadas como se fossem células. Pode ainda ocorrer variação do volume aspirado ou da velocidade do fluxo. Os erros por coincidência podem ser evitados com melhoria da tecnologia, principalmente com o uso da citometria de fluxo e de detector eletroóptico. Os restos celulares podem ser eliminados por um fluxo de diluente para longe da abertura, evitando, assim, contagens espúrias (BAIN & BATES, 2006).

4.3 CRITÉRIOS DE GARANTIA DE QUALIDADE

O uso dos seguintes critérios são importantes na fase analítica do Controle de Qualidade.

4.3.1 Uso de sangue controle comercial

O uso de amostras de sangue controle comercial do fabricante do aparelho em três níveis (baixo, médio e alto) deve ser uma prática nos laboratórios clínicos. A aplicação das regras de "Controle Qualidade de regra múltipla" tem sido eficiente quando se utiliza sangue controle comercial. Os resultados são analisados por 20 dias consecutivos. Essas regras devem ser empregadas para rejeitar corridas, deixar resultados em alerta ou mostrar tendências. Em estudo desenvolvido no Hospital Governador Israel Pinheiro, FERREIRA et al. (2002), constatou a eficácia do controle de qualidade quando se empregaram as seguintes regras dos critérios de rejeição de controles:

- 1_{3s} - um resultado fora de ± 3 DP;
- 2_{2s} - dois resultados consecutivos fora de 2 DP do mesmo lado da média;
- R_{4s} - dois resultados consecutivos fora de 2 DP em sentidos opostos
- 2 de 3_{2s} ou 3 de 3_{2s} - dois ou três resultados consecutivos fora do mesmo 2 DP;
- 4_{1s} - quatro resultados consecutivos fora de ± 1 DP;
- 10_{xm} - dez resultados de controles do mesmo lado da média.

As regras 1_{3s} e R_{4s} indicam erros aleatórios e os erros sistemáticos são detectados pelas regras 2_{2s} , 2 de 3_{2s} ou 3 de $2s$, 4_{1s} , e 10_{xm} . Os critérios de aceitabilidade dessas regras variam para cada sistema analítico, nem sempre precisam ser rigidamente obedecidos (VIEIRA, 2008).

4.3.2 Análise de repetição de amostras de sangue fresco

Na ausência de amostras controle comerciais, é aceitável o uso de amostras de sangue fresco do dia anterior devidamente acondicionadas em geladeira, podendo esse procedimento ser adotado diariamente para garantir a qualidade das análises realizadas no laboratório clínico.

4.3.3 Cálculo das médias móveis de Bull

As médias de Bull determinam que as médias dos valores dos índices hematimétricos já conhecidos como VCM, hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM), sejam relativamente fixas e tendam a variações mínimas (OLIVEIRA, 2007). Um coeficiente de variação de $\pm 3,0\%$ em relação a médias anteriores sugere um erro na calibração do analisador. Foi demonstrado que a diminuição do CHCM, em relação a médias anteriores, significa erros para menos na dosagem de hemoglobina, aumento do VCM ou contagem para mais dos eritrócitos. Os valores encontrados por Bull em 3600 pacientes hospitalizados de três continentes foram VCM=89,5 fL, HCM=30,5 pg e CHCM de 34,0%. A análise das médias móveis ao longo dos turnos representam a melhor avaliação da estabilidade dos equipamentos (KRAUSE, 2002).

4.3.4 Delta checks

Avaliações estatísticas dos resultados do mesmo paciente, em momentos diferentes, são denominadas delta checks. Os valores encontrados não podem ultrapassar a 10% para hemoglobina e de 20 a 25% para leucócitos e plaquetas, desde que o quadro clínico do paciente se mantenha estável (FERREIRA et al., 2002).

4.3.5 Controle externo da qualidade

A participação dos laboratórios em testes de proficiência da SBPC (PELM) ou da SBAC (PNCQ) permite comparar os resultados entre laboratórios. A análise crítica de resultados é importante para ações corretivas, quando necessário. Para o cliente, isso representa maior confiabilidade (FERREIRA et al., 2002).

4.3.6 Revisão de lâminas

Resultados de hemogramas com *flags*, resultados numéricos fora dos limites de referência, amostras de pacientes menores de 5 anos ou maiores de 75 anos, hemogramas de clínicas onco-hematológicas ou da UTI (unidade de terapia intensiva), além de pedidos médicos específicos, como pesquisa de linfócitos atípicos, de esferócitos, constituem alguns dos critérios utilizados para revisão obrigatória da lâmina do paciente. Com o uso desses critérios, cerca de 10% a 20% das lâminas são revisadas. Mesmo com esses cuidados, algumas alterações podem passar despercebidas pelos analisadores. Alguns desses exemplos são mostrados a seguir (FAILACE, 2009):

NO ERITROGRAMA

- Policromatose
- Pecilocitose (de um modo geral)
- Ovalócitos
- Esferócitos
- Acantócitos
- Inclusões (Howell Jolly, pontilhado basófilo)
- Eritroblastos <5% (o Cell-Dyn 4000 identifica-os)
- *Rouleaux*

NO LEUCOGRAMA

- Desvio à esquerda (há um *flag Imm Grans/Bands* em 80% dos casos com leucocitose, mas em menos de 40% dos casos sem leucocitose); a anomalia de Pelger-Huët nunca é notada
- Granulações tóxicas e corpos de Döhle
- Plasmócitos
- Linfócitos atípicos (há *flag Variant lymphs* em 80% dos casos com linfocitose mas, em menos de 30%, sem linfocitose; identificam muitos como monócitos)
- Linfócitos clivados
- Linfócitos com granulação ou vacuolização anormais
- *Hairy cells* (aparecem como monócitos)

4.4 CAUSAS DE ERROS EM CONTADORES HEMATOLÓGICOS

4.4.1 Plaquetas

As plaquetas, fragmentos do citoplasma do megacariócito, desempenham funções hemostáticas insubstituíveis, circulam na corrente sanguínea durante sete a dez dias e aproximadamente 100 bilhões são produzidas por dia.

Quadros clínicos com sangramento mucocutâneo, desencadeados por plaquetopenias e plaquetocitose relacionada a risco trombótico aumentado, justificam a preocupação dos analistas clínicos com a acurácia na contagem de plaquetas (COMAR et al., 2009). O uso generalizado de analisadores hematológicos tem levado à melhoria da hematologia celular, propiciando a contagem rápida e precisa das plaquetas na maioria dos casos. Entretanto, resultados falsos têm sido observados em várias situações. Conseqüentemente é importante que os operadores estejam familiarizados com seus analisadores e saibam reconhecer falsos resultados (BAIN & BATES, 2006).

Em instrumentos que têm a impedância elétrica como princípio, partículas analisadas são suspensas em uma solução eletrolítica e essa diluição é passada através de uma abertura que liga duas câmaras, uma contendo o eletrodo positivo e outra, o eletrodo negativo. Quando as células passam pelo orifício, causam um aumento na resistência elétrica, que registra um pulso. Cada pulso representa uma célula e o tamanho do pulso é proporcional ao tamanho da célula. As plaquetas e hemácias são analisadas no mesmo canal. Os contadores por impedância registram partículas variando de 2 fL a 20 fL como sendo plaquetas.

A ocorrência de *flags* sinalizam para o analista a presença de parâmetros fora da normalidade e são emitidos, quando o aparelho não consegue separar plaquetas de hemácias ou em situações de plaquetocitose ou plaquetopenia.

Em aparelhos a laser, as partículas passam através de um feixe de laser, provocando dispersão da luz, que é detectada por um **fotodiodo**. A quantidade de luz difusa é proporcional ao volume da partícula. As plaquetas são identificadas em um histograma de dispersão com base no seu volume e índice de refração (ZANDECKI et al., 2007).

Analisadores hematológicos de última geração são mais precisos e exatos para contagem de plaquetas, mas ainda podem gerar contagens espúrias em algumas situações. Uma imprecisão na contagem de plaquetas pode ser gerada principalmente em valores abaixo de 10.000 p/mm³ (COMAR et al., 2009). Entretanto, as maiores causas de erros podem resultar de características das amostras de sangue, como:

- pseudoplaquetopenia induzida por EDTA, fenômeno *in vitro*, causado por proteínas específicas que reagem com plaquetas em presença de EDTA formando agregados plaquetários;
- aglutinação de plaquetas em presença de EDTA, fenômeno que ocorre geralmente em poucos minutos após exposição do sangue ao anticoagulante, sendo mais visível em amostras de sangue mantidas à temperatura ambiente. Agregados são de tamanhos variados quando observados em lâminas coradas ou em câmara de Neubauer. Se os agregados de plaquetas atingirem o tamanho de leucócitos, pode-se observar número de leucócitos falsamente elevados. Nesses casos, os aparelhos emitem alarmes relacionados à imprecisão para determinar a contagem de leucócitos ou para fazer diferencial de leucócitos. Analisadores que não realizam diferencial de leucócitos negligenciam esses agregados plaquetários. A aglutinação ocorre à temperatura ambiente e não pode ser revertida por aquecimento e, na maioria dos casos, leva a um aumento dos aglomerados. Vários outros anticoagulantes têm sido propostos para evitar ou diminuir a formação desses agregados, incluindo ACD (citrato, ácido cítrico e dextrose), MgSO₄ (sulfato de magnésio) ou adição de aminoglicosídeos para dissolvê-lo ou prevenir o fenômeno (ZANDECKI et al., 2007).
- pseudoplaquetopenia relacionada ao satelitismo plaquetário em torno dos leucócitos. Consiste em um fenômeno *in vitro*, relacionado com a aderência da plaqueta aos neutrófilos e ocasionalmente outras células. Esse fenômeno é raro e pode estar relacionado a um processo autoimune. Todavia, seu significado clínico não é bem conhecido. A sinalização não é consistente na maioria dos casos, e aparece após análise do diagrama de dispersão referente ao diferencial de leucócitos. No entanto, essa alteração pode variar com o tempo de coleta. Nas três primeiras horas após a coleta, ocorre um aumento de células com

satelitismo, sendo que após 4h a 6h, o ritmo de formação dessas células torna-se mais lento (ZANDECKI et al., 2007).

Outros fatores têm sido relatados como causas de pseudoplaquetopenias, como a presença de coágulos de fibrina indetectáveis, agregação plaquetária devido à coleta difícil, quantidade de anticoagulante inadequada, processos infecciosos, aglutininas frias e plaquetas gigantes.

A constatação de contagens de plaquetas falsamente diminuídas a partir de avaliação plaquetária em lâminas é muito importante, sobretudo para evitar investigação e tratamento desnecessário ao paciente. A precisão e a exatidão da contagem de plaquetas em aparelhos automatizados são maiores que no método manual. Em situações de plaquetopenia abaixo de 20.000/mm³, o coeficiente de variação é de 22% a 66%. Nessas situações, em método mais recentemente desenvolvido para contagem de plaquetas, utiliza-se anticorpos monoclonais específicos e fluorescentes contra as glicoproteínas de superfície da membrana plaquetária CD41 (GPIIa) e CD61 (GP IIIa) conjuntamente à análise por citometria de fluxo. Atualmente, há apenas o *Cell-Dyn 4000* ou *Cell-Dyn Sapphire* com essa tecnologia, que tem sido proposta pela *International Society for Laboratory Hematology* (ISLH) como novo método de referência. Entretanto, contagem de plaquetas com contraste de fase também é considerada, como método internacional de referência (COMAR et al., 2009).

Nas doenças mieloproliferativas ou síndromes mielodisplásicas, podem aparecer plaquetas gigantes que podem ser contadas como hemácias ou leucócitos, levando a um falso aumento dessas células.

Variações pré-analíticas também podem levar ao aparecimento de plaquetas gigantes. O local de punção venosa, coleta difícil em RN (recém-nascido) e um atraso entre coleta e análise podem acarretar o aumento do volume plaquetário médio (VPM), resultando na incapacidade do aparelho de fazer contagem correta (ZANDECKI et al., 2007). De acordo com LASMAR et al. (2003), o aumento da ordem de 17% no VPM, medido a partir da tecnologia por impedância, foi observado após 36 horas de exposição da amostra de sangue ao EDTA.

Cumprе ressaltar que pseudo-plaquetocitose pode ocorrer em casos de microcitose acentuada, hemólise microangiopática com grande número de esquisócitos, microesferocitose, queimaduras agudas, partículas no líquido diluidor, degranulações de leucócitos (especialmente eosinófilos), fragmentação de blastos e

mesmo de bactérias. Esses são exemplos de interferências no método automatizado, favorecendo uma falsa plaquetocitose e determinação espúria do VPM (LASMAR et al., 2003).

Os contadores a laser permitem a separação exata em plaquetas normais, plaquetas gigantes, hemácias pequenas e esquisócitos na maioria das amostras. Diante da importância para valores diminuídos ou aumentados para plaquetas, recomenda-se a confirmação do número de plaquetas a partir da análise do esfregaço sanguíneo ou contagem manual, empregando outra amostra e outro método de contagem, como a citometria de fluxo (ZANDECKI et al., 2007). Alterações do histograma de plaquetas, confirmadas com as observações do filme sanguíneo, são mostradas na Figura 8.

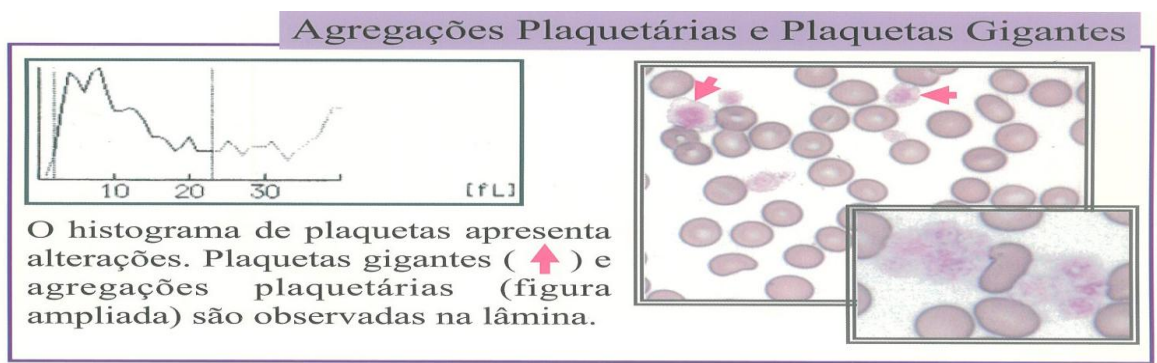


Figura 8 – Alterações do histograma de plaquetas
Fonte: SYSMEX; [s.d.].

4.4.2 Reticulócitos

A contagem de reticulócitos é de grande importância dentro do laboratório de hematologia, por ser um indicador sensível da atividade da medula óssea. Seus resultados auxiliam no diagnóstico e acompanhamento das anemias e de terapias de transplantes de medula óssea. A contagem automatizada dos reticulócitos por citometria de fluxo trouxe valiosa contribuição à hematologia, embora ainda com certas limitações. Baseada em afinidade do RNA por vários corantes e fluorocromos, as células coradas ou fluorescentes são contadas por um citômetro de fluxo como os modelos ABX Pentra 120 Retic, Sysmex R-2000, Sistema Coulter STKS, Beckman Coulter LH 750, Cell-Dyn 3500 e XE 2100, FACSsort (Becton-Dickinson) e EPICS Profile (Coulter), com grande precisão, linearidade e coeficiente de correlação superior a 0,8%. Com essa metodologia, é possível avaliar o grau de imaturidade reticulocítica,

importante no tratamento da anemia aplástica, e como indicador de regeneração hematopoiética após quimioterapia mielossupressora. Também é útil na previsão do melhor momento para a coleta de células tronco (LEONART, 2009).

As principais causas de erros nessas contagens são a inclusão de leucócitos, plaquetas, corpúsculos de Howell-Jolly e outras, ou de parasitos de malária, como se fossem reticulócitos (BAIN, 2007).

A contagem visual ainda muito utilizada apresenta precisão e exatidão aceitáveis, quando realizada dentro de técnicas rigorosamente padronizadas, como as preconizadas pelos *National Committee for Clinical Laboratory Standards* e *International Committee for Standardization in Haematology*, incluindo a padronização na fase pré-analítica e analítica, como a coleta, preservação da amostra, corante, diluição, critério de reconhecimento de reticulócitos e número de eritrócitos contados. Segundo LEONART (2009), um erro pré-analítico pode aumentar a contagem de reticulócitos e o armazenamento da amostra pode reduzir os valores das contagens iniciais. Essas contagens, quando padronizadas, correlacionam-se bem com as contagens automatizadas e são utilizadas como método de referência para calibração de contadores automatizados. O método visual é indicado sempre que o aparelho emite *flags*. As contagens devem ser confirmadas observando sempre as variáveis como sexo, idade e procedência. É importante consultar resultados anteriores e, se ainda assim houver dúvidas, observar icterícia no plasma, passar novamente a amostra em outro contador e repetir a contagem pelo método visual.

4.4.3 Leucócitos

Contagens espúrias de leucócitos em analisadores, levando a pseudoleucocitose são constatadas sempre que houver aglutinação de plaquetas em presença de EDTA, plaquetas gigantes, crioaglutininas, eritroblastos, lípidos, lise insuficiente de hemácias, hemoglobinas anormais, paraproteinemia, filamento de fibrina, hiperlipidemia, parasitos de malária, hemoglobina instáveis, síndromes mielodisplásicas ou anemias megaloblásticas. Nessas situações, há emissão de *flags*. A análise do histograma é de fundamental importância para interpretação desses *flags*. Nos casos de contagens erradas pela presença de crioaglutininas, observa-se também um aumento de VCM e CHCM, sendo o último índice mais importante para alertar resultados errados (BAIN, 2007).

Pseudoleucopenias são raras e observadas em casos de lise celular, amostras

conservadas à temperatura ambiente por mais de 24 horas, presença de agregação de leucócitos, agregação de células de linfoma e mieloma, ou de leucócitos ou plaquetas por anticorpos.

4.4.4 Erros nas contagens diferenciais

Comparações das contagens automatizadas com contagens feitas ao microscópio mostram inexatidão significativa nos contadores automatizados. Existem instrumentos que não emitem alarmes, mesmo na presença de eritroblastos, granulócitos imaturos, linfócitos atípicos e blastos. As contagens diferenciais em instrumentos de duas ou três partes não identificam aumento de eosinófilos e basófilos e as contagens diferenciais de duas partes não identificam a monocitose. As contagens de três partes automatizadas por impedância apresentam inexatidão após 30 minutos após a coleta, ocorrendo aumento das células mononucleares. A maioria dos aparelhos de três partes apresentam alarmes em presença de células blásticas, granulócitos imaturos e linfócitos atípicos. As alterações decorrentes da estocagem são menores em amostras conservadas a 4° C até o momento da análise. Nos aparelhos de cinco a sete partes, os efeitos da conservação da amostra são menos evidentes, sendo as variações de, no máximo, 1% a 2% após 72 horas (BAIN, 2007). Nas Figuras 09 e 10 ilustram-se histogramas com alterações de leucócitos, obrigando o analista a recorrer ao microscópio para liberação dos laudos hematológicos.

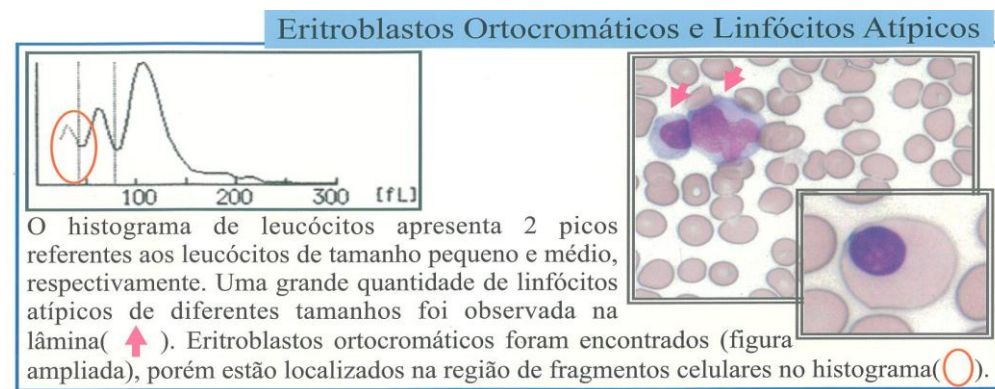


Figura 9 – Histograma dos leucócitos e filme sanguíneo correspondente
Fonte: SYSMEX, [s.d].

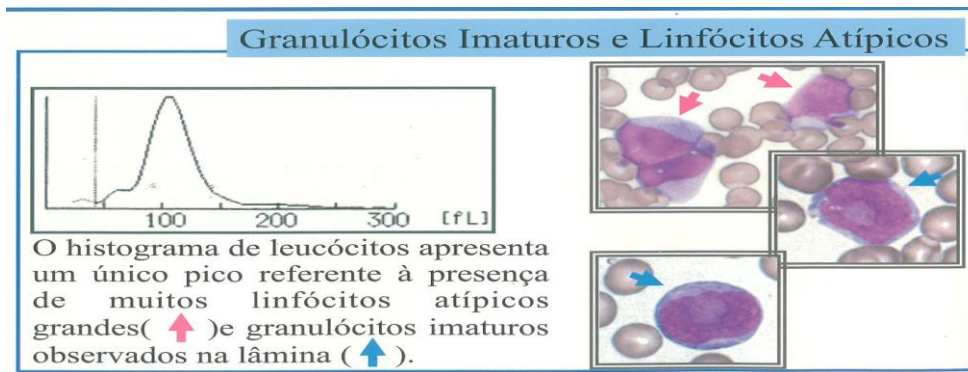


Figura 10 – Histograma de leucócitos e filme sanguíneo correspondente
Fonte: SYSMEX, [s.d.].

Causas de erros em contagens diferenciais em aparelhos de impedância e dispersão de luz são ilustrados no Quadro 1.

Quadro 1 – Causas de erros em contagens diferenciais

Erro	Conseqüência	Aparelho ()
Conservação após 24 horas	Aumento dos monócitos e baixa dos neutrófilos	Sysmex NE-1500 E NE-8000 (56,57)
Conservação à temperatura ambiente	Baixa dos neutrófilos e dos monócitos e aumento dos linfócitos após 24 horas	Abbot Cell-Dyn 3500 (6)
	Aumento dos linfócitos e baixa dos eosinófilos	Cobas Argos 5 Diff (36)
Agregação dos neutrófilos	Baixa contagem de leucócitos e da porcentagem dos neutrófilos e aumento da porcentagem de linfócios	Todos
Agregação de linfócitos	Aumento da porcentagem de neutrófilos	Coulter STKS (41)
Falta de lise dos eritrócitos		Coulter STKS (42)
Eritrócitos neonatais		Coulter STKS
Hiperlipidemias	Aumento nas contagens de linfócitos e leucócitos	Sysmex ME-8000 e NE-8000
Hemoglobinas anormais		
Síndromes mielodisplásicas		

Parasitas de malária	Aumento de linfócitos e monócitos	Sysmex NE-8000
Linfócitos anormais em infecção por HIV	Pseudobasofilia	Sysmex NE-8000 (46,47) Coulter STKS (34,45,49)
Mieloblastos, promielócitos, linfoblastos e mieloblastos		Cell-Dyn 3000 (48)
Plaquetas gigantes	Aumento dos linfócitos	Coulter STKS
Pacientes com desvio à esquerda	Aumento dos monócitos e baixa dos neutrófilos	Cobas Argos 5 Diff (33)

Fonte: BAIN, (2007)

4.4.5 Eritrócitos

A contagem automatizada de hemácia, a partir da década de 1980, passou a ser realizada em aparelhos de múltiplos canais e com módulo fechado. Com isso, tornou-se mais confiável e exata. O coeficiente de variação das contagens em aparelhos calibrados é inferior a 2%. Em todos os aparelhos, são contadas junto às plaquetas, pelo princípio da impedância (FAILACE, 2009). Algumas situações podem levar a contagens espúrias de hemácias, como mostradas no Quadro 2.

Quadro 2 – Causas de contagens espúrias de hemácias

Contagens baixas	Alterações possíveis de outros parâmetros
Crioaglutininas, aglutininas quentes (induzem aglutinação dos eritrócitos)	Aumento de VCM e HCM
Micrócitos	Aumento de plaquetas
Crioglobulinas (podem formar um gel, levando à aspiração inadequada).	Diminuição de hemoglobina, global de leucócitos e plaquetas.
Hemólise <i>in vitro</i>	Aumento de HCM e hemoglobina
Coagulação	Todos os parâmetros
Contagens altas	
Contagens altas de leucócitos (pois na maioria dos aparelhos, leucócitos e hemácias são enumerados no mesmo canal).	Aumento de VCM, HCM e hematócrito.
Plaquetas gigantes	Contagem baixa de plaquetas

Fonte: ZANDECKI et al., (2007)

Exemplo de histograma de hemácia é mostrado a seguir na Figura 11 (à esquerda), bem como o filme sanguíneo correspondente (à direita).

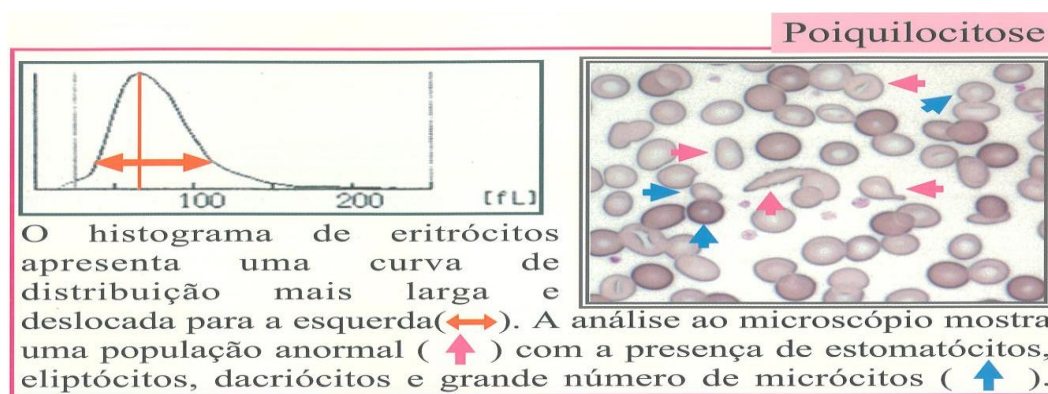


Figura 11 – Histograma de hemácias com filme sanguíneo correspondente.
Fonte: SYSMEX, [s.d.].

4.4.6 Hemoglobina

A determinação da concentração de hemoglobina, independente do aparelho, é sempre realizada por espectrofotometria, compartilhando a contagem de leucócitos no mesmo canal. O coeficiente de variação é de 2%. O método manual é o de referência e usado para calibração dos aparelhos.

Segundo FAILACE (2009), os erros mais frequentes nas dosagens de hemoglobina são:

- lipemia: o resultado da hemoglobina pode aumentar em até 1g/dL, sendo que esse erro é observado pelo aumento impossível da CHCM. A substituição do plasma por solução salina corrige essa dosagem espúria;
- global elevada: contagens acima de 100.000/ μ L podem aumentar a dosagem de hemoglobina também em até 1 g/dL. Nesses casos, para correção dos resultados, é necessário centrifugar a amostra e dosar a hemoglobina no sobrenadante;
- falta de manutenção da câmara de leitura do contador leva a um aumento da hemoglobina e da CHCM.

Outras alterações segundo ZANDECKI et al., (2007) incluem:

- presença de imunoglobulinas e crioglobulinas pode aumentar o teor de hemoglobina e também a contagem global, das plaquetas e da HCM;
- hemólise *in vitro* e teor de bilirrubinas acima de 300 mg/L levam ao aumento de hemoglobina e da HCM;

- dosagens baixas espúrias de hemoglobina são observadas sempre que ocorrem erros pré-analíticos, como coagulação da amostra, punção venosa próximo a acesso ou preenchimento do tubo de coleta acima do limite estipulado, dificultando a homogeneização da amostra.

4.4.7 Hematócrito

O método manual para determinação do hematócrito é usado como método de referência para calibração de aparelhos automatizados. O hematócrito é usado também como monitoramento da exatidão da dosagem de hemoglobina e como teste de triagem para anemias (BAIN, 2007). Além disso, sua determinação é importante para avaliar alterações volêmicas por correlacionar bem com a viscosidade sanguínea.

Nos contadores automatizados, o hematócrito é um parâmetro calculado, obtido pela multiplicação do número de hemácias pelo volume médio destas.

4.4.8 Índices hematimétricos

A determinação dos índices hematimétricos é importante para o diagnóstico diferencial das anemias.

- VCM: volume corpuscular médio

Obtido quando os contadores contam e medem os eritrócitos simultaneamente. Sua determinação é precisa, mas não exata. As causas de erro mais frequentes são encontradas quando há um excesso de EDTA, com desidratação dos eritrócitos e valores baixos de VCM. A conservação da amostra por tempo prolongado à temperatura ambiente e a presença de crioaglutininas aumentam o VCM. Os contadores de impedância apresentam erros maiores do que os que contam e medem a dispersão da luz.

- HCM: hemoglobina corpuscular média

É calculada quando se divide a quantidade de hemoglobina pelo número de eritrócitos da amostra. Valores espúrios são consequência de erro nas determinações de hemoglobina, hemácias e VCM. Segundo HOFFMAN (2007), a HCM reflete melhor a hipocromia do que a CHCM. É utilizada como parâmetro para definição de hipocromia em *software* de alguns analisadores como os da linha Coulter e Cell-Dyn, o que gera questionamentos de acordo com FAILACE et al., (2009).

- CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média

É calculada dividindo-se o teor de hemoglobina pelo volume eritróide da

amostra, sendo uma medida exata. De acordo com BAIN (2007), esse índice altera pouco quando as células se tornam hipocrômicas, devido ao aumento espúrio do microhematócrito. Nos aparelhos mais modernos, o CHCM diminui com o desenvolvimento da hipocromia.

As causas de erro são frequentemente falsas, servindo de alerta para possibilidade de um resultado incorreto. A discrepância entre o CHCM e o HCM serve como *flag*. Um valor falsamente elevado de CHCM pode ser observado em aumento errôneo da hemoglobina, hemólise, diminuição do hematócrito e em estados hipoosmolares. Contagens falsamente diminuídas são observadas com falso aumento do VCM, contagem espúria de eritrócitos devido à presença de plaquetas gigantes e estados hiperosmolares.

Os contadores Advia/Bayer, ao contar e medir os eritrócitos um a um, fazem determinação direta da concentração da hemoglobina. A variação da concentração de hemoglobina expressa pelo CV é o HDW (*hemoglobin distribution width*). Esse índice está aumentado nas hemoglobinopatias e drepanocitose, indicando uma variabilidade grande nas concentrações de hemoglobinas (FAILACE, 2009).

Estudos avaliando os índices hematimétricos em contadores Pentra 120 Range e Sysmex XT-2000i, HOFFMAN et al. (2007) sugerem diminuição da sensibilidade dos aparelhos em amostras com macrocitose e microcitose. A comparação dos valores de HCM e CHCM com a avaliação de microscopia das mesmas amostras mostrou ser o HCM mais compatível. Para o contador Sysmex XT-2000i, o HCM é o melhor indicador de hipocromia e CHCM é compatível apenas com o Pentra120 Range. Esses resultados mostram a necessidade do conhecimento do aparelho utilizado, da implantação do controle de qualidade, com análise criteriosa dos resultados e avaliações morfológicas por microscopia dos resultados fora da faixa de referência.

- RDW: red blood cell distribution width

O RDW é derivado da análise da amplitude dos pulsos e pode ser expresso como DP ou CV. Deve ser interpretado juntamente com o VCM para classificação das anemias. É um importante índice na diferenciação entre pacientes com anemia ferropriva e heterozigotos para alfa e beta talassemias. Porém, mostrou-se pouco sensível, mas altamente específico para a presença de anisocitose. Segundo HOFMANN et al., (2007), as causas de erros são as mesmas do VCM.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, fica patente a importância da introdução de um Programa de Garantia da Qualidade nos laboratórios clínicos, sendo inadmissível um estabelecimento dessa natureza que não realize diariamente avaliação da precisão e da exatidão de suas análises.

A avaliação do desempenho analítico de um laboratório clínico, mediante comparações de resultados com outros laboratórios de referência, constitui um procedimento essencial que norteia a implantação de ações corretivas e/ou de melhoria contínua. O alto padrão de qualidade oferecido, indubitavelmente, impactará, de modo favorável, a acurácia do diagnóstico e, conseqüentemente, o tratamento de doenças beneficiando pacientes, o que repercutirá na fidelização da clientela.

Em particular, o laboratório de hematologia exige cuidados especiais para a garantia e a confiabilidade dos serviços prestados, principalmente com relação à preparação, à coloração e à observação das lâminas. Isso deve ser realizado por um analista clínico de grande experiência, considerando a diversidade de alterações morfológicas e/ou células que podem estar presentes nas doenças hematológicas e em muitas condições que dão repercussão no sangue periférico.

Apesar da maior rapidez dos contadores automáticos, o papel do analista clínico na identificação e interpretação de quadros hematológicos característicos de uma gama de doenças, bem como de situações de monitoramento de pacientes sob tratamento, é de fundamental importância e insubstituível pelos modernos contadores. Além do mais, o analista clínico deve ser capaz de avaliar o desempenho seguro e confiável de seu equipamento, valendo-se de padrões e calibradores, bem como é seu papel ser capaz de gerenciar seu próprio negócio com responsabilidade, competência e lucratividade.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-ANVISA. *Resolução n. 302*, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre regulamento técnico para funcionamento de laboratórios clínicos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: mar. 2010.
- BACALL, N.S. Analisador automático hematológico e a importância de validar novos equipamentos em laboratórios clínicos. *Rev.Bras.Anal.Clin.*, v. 31, n. 4, p. 218-220, 2009.
- BAIN, B.J. *Células sanguíneas: um guia prático*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 437 p.
- BAIN, B.J.; BATES, I. Técnicas hematológicas básicas. In: LEWIS, S. M.; BAIN, B.J.; BATES, I. *Hematologia prática de Dacie e Lewis*. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. p. 33-53.
- BASQUES, J.C. *Usando controles no laboratório clínico*. Labtest, 2009. Disponível em: <<http://www.labtest.com.br>>. Acesso em: 9 abr. 2010.
- EDITORA MÉDICA COLOMBIANA. El hemograma electrónico, *Med. Lab.*, v. 5, n. 1, p. 28-41, 1995.
- BRIGGS, C.; LONGAIR, I.; SLAVIK, M.; THWAITE, K.; MILLS, R.; VTHAVARAJA; FOSTER, A.; ROMANIN, D.; MACHIN, S.J. Can automated blood film analysis replace the manual differential. An evaluation of the CellaVision DM96 automated image analysis system. *Int. J. Lab. Hem.*, v. 31, p. 48-60, 2009.
- COMAR, S. R.; DANCHURA, H. S. M.; SILVA, P. H.; Contagem de plaquetas: avaliação de metodologias manuais e aplicação na rotina laboratorial. *Rev.Bras.Anal.Clin.*, v. 31, n. 6, p. 431-436, 2009.
- FAILACE, R. *Hemograma: manual de interpretação*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 400 p.
- FERREIRA, M.F.R; VIEIRA, L.M.F.; BASTOS, M. Garantia de qualidade do hemograma automatizado. *Rev.Bras.Anal.Clin.*, v. 34, n. 3, p. 121-129, 2002.
- HOFFMANN, L.P.; POLLETTI, C.; ROEHRIG, K.S.; AZIZ, M.M.; KUNTZ, A.K; DALL CORTIVO, G.; SOUZA, N.M.A.; SANTOS-SILVA, M.C. Avaliação dos índices hematimétricos emitidos pelos contadores hematológicos Pentra 120 Range e Sysmex XT-2000i. *Rev.Bras.Anal.Clin.*, v. 39. n. 1. p. 25-28. 2007.

- KRAUSE, J.R. Quality assurance. In: RODAK, B. *Hematology : clinical principles and applications*. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2002. p. 41-51.
- LASMAR, M.C.; SOUTO, J.B.G.; FERREIRA, M. F. R.; DUSSE, L.M.S; VIANA, L.M.; LAGES, G.F.G.; CARVALHO, M.G. Contagem de plaquetas: método manual versus método automatizado. *Rev.Bras.Anal.Clin.* , v. 35, n. 3, p. 113-116, 2003.
- LEONART, M.S.S. A importância do controle de qualidade para a contagem de reticulócitos por métodos visual e automatizado. *Rev.Bras.Anal.Clin* , v. 31, n. 5, p. 303-304, 2009.
- LOPES, H,J,J. *Garantia e controle de qualidade no laboratório clínico*. 2003. p. 35. Disponível em: <<http://www.goldanalisa.com.br>>. Acesso em: 20 abr. 2010
- OLIVEIRA, R.A.G. *Hemograma : como fazer e interpretar*. 7. ed. "São Paulo". LMP, 2007. 505 p.
- OLIVEIRA, R.A.G.; TAKADASHI, M.M.; NONOYAMA, K.; BARRETO, O.C.O. The absolute recommendation of chamber neubauer for platelets counting instead of indirect methods in severe thrombocytopenic patients. *J. Bras. Pat. Med. Lab.*, v. 39, n. 2, p. 139-141, 2003.
- OLIVEIRA, S.C. Acreditação, certificação e qualidade. p. 1-10, [s.d.]. Disponível em: <<http://www.visbrasil.org.br>>. Acesso em: 20 jul. 2010.
- ROTH, E. *Como implantar a qualidade em laboratório clínico*. Rio de Janeiro: Futura, 1998. p. 1-26.
- SYSMEX. *Analizador hematológico automatizado*. KX-21 N/pocH-100i. [s.d.]. Cartaz.
- SYSMEX *Analizador hematológico automatizado*. pocH-100i. [s.d.]. cartaz.
- VIEIRA, L. *Conceitos, ferramentas e aplicabilidade dos controles da qualidade (interno e externo) e testes de proficiência*, p. 1-18, 2008. Disponível em: <<http://www.labconsult.com.br>>. Acesso em: 10 mar. 2010.
- ZANDECKI, M.; GENEVIEVE, F.; GERARD, J.; GODON, A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: Platelets. *Int. Jnl. Lab. Hem.*, v. 29, p. 4-20, 2007.
- ZANDECKI, M.; GENEVIEVE, F.; GERARD, J.; GODON, A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cells indices and reticulocytes. *Int. Jnl. Lab. Hem*, v. 29, p. 21-41, 2007.