

Influência da relação sangue/anticoagulante e da temperatura de armazenamento em parâmetros plaquetários utilizando o analisador Cell Dyn Ruby®

Maria Júlia Wolski¹ , Mariane Faria Moss¹ , Danielle Cristyane Kalva-Borato¹ 

RESUMO

Introdução: O resultado laboratorial é diretamente influenciado por etapas da fase pré-analítica, como método de coleta, transporte e armazenamento das amostras biológicas. Desta forma, a estabilidade da amostra biológica é um aspecto crucial e determinante para a qualidade dos resultados de um laboratório clínico. Estudos demonstram que alguns parâmetros plaquetários podem sofrer modificações na presença da relação sangue/anticoagulante alterada, com aumento do tempo de estocagem e/ou alterações na temperatura de armazenamento, podendo levar a resultados não representativos. Portanto, o objetivo desse estudo foi investigar a confiabilidade dos parâmetros plaquetários com relação ao efeito da relação anticoagulante/sangue e da temperatura de armazenamento, em amostras estocadas por até 24 horas após a coleta, utilizando o equipamento Cell Dyn Ruby®. **Métodos:** Foram avaliados 351 hemogramas, em diferentes tempos de análise: 2, 5, 12 e 24 horas e formas de estocagem: à temperatura ambiente (25°C) e à 4°C, além da relação anticoagulante/sangue. Foram selecionados os seguintes parâmetros plaquetários: PLT (contagem total de plaquetas), VPM (volume plaquetário médio), PDW (amplitude de variação do tamanho das plaquetas) e PCT (plaquetócrito). A confiabilidade dos resultados foi avaliada pelo CVa (%), dentro da variação analítica máxima permitida, assim como pela diferença de média dos resultados em relação à amostra de base (2 horas). **Resultados:** A contagem total de plaquetas foi o único parâmetro avaliado que apresentou reprodutibilidade de resultados em todas as condições analisadas. Em relação aos demais parâmetros plaquetários, foi observado imprecisão dos resultados emitidos pelo Cell Dyn Ruby®, a partir de 5 horas de estocagem, tanto em temperatura ambiente quanto refrigerada. **Conclusão:** Este estudo demonstra que fatores pré-analíticos, como a temperatura de armazenamento e o tempo de estocagem, podem afetar a variabilidade dos parâmetros plaquetários, podendo produzir resultados equivocados. Deste modo, deve-se respeitar a correta relação sangue/anticoagulante e evitar o processamento tardio da amostra.

Palavras-chave: Hemograma, Contagem de plaqueta, Anticoagulante.

1. Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG. Ponta Grossa, (PR), Brasil.



INTRODUÇÃO

A contagem de plaquetas é um parâmetro fornecido no hemograma, obtido por diferentes métodos: impedância, óptico e imunológico; dependendo do analisador automatizado utilizado¹. Atualmente, além da contagem de plaquetas, os analisadores hematológicos fornecem novos parâmetros, como: o volume plaquetário médio (VPM), amplitude de distribuição das plaquetas (PDW, do inglês *Platelet Distribution Width*) e o plaquetócrito (PCT)².

Na maioria dos laboratórios existem analisadores automatizados capazes de processar as amostras hematológicas de maneira eficiente e rápida³. A análise tardia das amostras é recorrente na prática laboratorial, visto que algumas amostras são encaminhadas para serem processadas em laboratórios distantes do local de coleta⁴. Em outras situações, o atraso do processamento pode ocorrer devido à interrupção do fluxo de trabalho por motivos operacionais ou técnicos, ou quando o teste precisa ser repetido para ratificação do resultado⁵.

O resultado laboratorial é diretamente influenciado por etapas da fase pré-analítica, como método de coleta, transporte e armazenamento das amostras biológicas⁶. Com relação à coleta de sangue venoso, o garroteamento não deve ultrapassar o tempo de um minuto, a relação sangue/anticoagulante deve ser respeitada, sendo o EDTA o principal anticoagulante utilizado em amostras destinadas para realização do hemograma. Posteriormente à coleta, os tubos devem ser homogeneizados suavemente por inversão (5 vezes no mínimo) para que o anticoagulante se misture adequadamente na amostra e não ocorra o aparecimento de microcoágulos⁷. As amostras biológicas para realização do hemograma devem ser transportadas respeitando as normas de biossegurança, em temperatura ambiente (15 a 22°C) e no menor tempo possível⁸. Para que a amostra seja processada adequadamente, após algum tempo em repouso, ela deve ser homogeneizada por 15 minutos antes da realização do exame. Deve ser destacado que amostras de sangue total estocadas a 4°C tornam-se viscosas, sendo importante permitir que retomem à temperatura ambiente antes da homogeneização⁷.

A maior frequência de erros no diagnóstico laboratorial está associada a fase pré-analítica, ou seja, procedimentos incorretos durante a coleta, transporte, preparação ou armazenamento das

amostras⁹. Portanto, é indispensável que o laboratório busque sanar os interferentes pré-analíticos, a fim de evitar o fornecimento de resultados imprecisos, que podem comprometer a confiabilidade do laboratório⁶.

Estudos demonstram que alguns parâmetros plaquetários podem sofrer modificações na presença da relação sangue/anticoagulante alterada, com aumento do tempo de estocagem e/ou alterações na temperatura de armazenamento, podendo levar a resultados não representativos^{4,10,11}. O resultado de um hemograma pode ainda ser influenciado pela variabilidade do equipamento hematológico¹². Por conta disso, uma avaliação mais abrangente sobre a imprecisão dos testes no equipamento pode ser avaliada pelo coeficiente de variação obtido pelo erro típico, levando em consideração o desvio padrão das individualidades de cada amostra¹³.

Os parâmetros plaquetários são considerados biomarcadores da ativação plaquetária, relacionados à morfologia e à cinética de proliferação das plaquetas². Desta forma, a avaliação desses biomarcadores permite uma investigação clínica mais ampla com foco no diagnóstico e no prognóstico de várias patologias¹⁴.

Portanto, se faz necessário uma padronização relativa à temperatura e tempo de estocagem da amostra biológica, bem como padronizar a relação anticoagulante/sangue durante a coleta do material e inteirar-se sobre a variabilidade analítica do equipamento utilizado para que haja a interpretação correta dos parâmetros plaquetários. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar as possíveis alterações dos parâmetros plaquetários resultantes de variantes da fase pré-analítica, como: o efeito da relação anticoagulante/sangue e da temperatura de armazenamento em amostras estocadas por até 24 horas após a coleta, utilizando o equipamento Cell Dyn Ruby®.

MÉTODOS

Delineamento do estudo

Foi realizado um estudo observacional, com avaliação dos resultados dos parâmetros plaquetários obtidos da rotina do Vitale Laboratório de Análises Clínicas, localizado no município de Irati, Paraná, Brasil. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, sob o parecer n.º 4.825.497.

Foram analisados apenas os resultados dos hemogramas com solicitação médica, avaliados de forma anônima e apresentados de forma agregada, não permitindo a identificação individual dos participantes, portanto não foi necessário o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Esta pesquisa foi realizada em conformidade com a Declaração de Helsinki.

Amostragem

O tamanho da amostra foi definido pelos procedimentos de validação da estabilidade de analisadores hematológicos, sendo exigido pelo menos dez amostras. Foram incluídos no estudo: indivíduos com idade superior a 18 anos e com valores de referência hematológicos normais, isentos de distúrbios hematológicos, como anemia, alterações nos índices hematimétricos, leucocitose, leucopenia, trombocitose e trombocitopenia. Foram utilizados como critérios exclusão do estudo: amostras lipêmicas, hemolisadas e proveniente de múltiplas punções. No total foram selecionadas 27 amostras biológicas para determinar o tempo máximo de armazenamento em diferentes condições.

Coleta da amostra

As amostras de sangue para a avaliação dos parâmetros plaquetários foram coletadas com agulha e seringa estéreis, em um tempo com garroteamento máximo de 30 segundos. Após a coleta, o sangue foi distribuído em tubos contendo o anticoagulante EDTA e imediatamente homogeneizado 5 vezes por inversão.

Foi coletado, para cada indivíduo, duas amostras de sangue, sendo:

i) Amostra 1 - sangue venoso periférico coletado em tubo contendo anticoagulante (EDTA K3, 4 ml, VACUETTE®, Premium, Greiner Bio-One, Áustria). Volume de sangue coletado: 4 ml;

ii) Amostra 2 - sangue venoso periférico coletado em tubo contendo anticoagulante (EDTA K3, 4 ml, VACUETTE®, Premium, Greiner Bio-One, Áustria). Volume de sangue coletado: 2 ml;

Primeiramente, as amostras coletadas foram processadas em até duas horas após a coleta no contador hematológico Cell Dyn Ruby® (Abbott Core 7 Laboratory, Chicago, EUA), após homogeneização de 15 minutos a 10 rpm no equipamento HH28 – Homogeneizador Digital (HoffmannLab, São Paulo,

Brasil). Foram obtidos do contador hematológico os seguintes parâmetros plaquetários: PLT (contagem total de plaquetas), VPM (volume plaquetário médio), PDW (amplitude de variação do tamanho das plaquetas) e PCT (plaquetócrito).

Equipamento

O analisador hematológico automatizado Cell Dyn Ruby® (Abbott Core Laboratory, Chicago, EUA) é hidrodinamicamente focado para alinhar as células em filas únicas conforme passam através da Célula Ótica de Fluxo, que é uma câmara de quartzo óticamente clara. Um laser de Hélio-Neon polarizado verticalmente é a fonte de luz. Existem 256 canais de tamanho para cada um dos parâmetros, cada canal de tamanho de hemácias sendo equivalente a 1fL e cada canal de tamanho de plaquetas sendo equivalentes a 0,137 fL. Os parâmetros de eritrócitos são calculados usando dados de sensores de 0°, 10° e 90°, enquanto os parâmetros de plaquetas são calculados usando os dados dos sensores 0° e 10°.

Processamento

Em seguida, a amostra de cada paciente foi homogeneizada por 15 minutos a 10 rpm e dividida em duas alíquotas iguais (alíquota 1 e 2). As alíquotas 1 foram armazenadas em temperatura ambiente (25°C) e as alíquotas 2, em temperatura de 4°C. Por conseguinte, as amostras foram divididas em quatro grupos para análise:

i) Temperatura ambiente (25°C), com proporção anticoagulante/sangue adequada;

ii) Refrigerado a 4°C, com proporção anticoagulante/sangue adequada;

iii) Temperatura ambiente (25°C), com alteração da proporção anticoagulante/sangue;

iv) Refrigerado a 4°C, com alteração da proporção anticoagulante/sangue;

Posteriormente, as alíquotas foram analisadas em diferentes tempos: 5, 12 e 24 horas, para os parâmetros avaliados no estudo. Antecedendo cada análise, foi realizada a homogeneização e estabilização da temperatura da amostra. Todas as análises utilizaram reagentes de mesmo lote, sendo realizado controle de qualidade interno diário e o contador hematológico foi calibrado, quando necessário.

Estatística

A normalidade das variáveis contínuas foi analisada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Confirmada a normalidade, as comparações dos diferentes tempos de estocagem (5, 12 e 24 horas) com relação à amostra base (2 horas) foram realizadas pela análise de variância para medidas repetidas (ANOVA) e os dados foram apresentados pela média. A imprecisão dos resultados foi avaliada pelo coeficiente analítico da variação CVa%, obtida pelo erro típico (ET), que corresponde ao desvio padrão das diferenças individuais entre a amostra de base (2 horas) e os diferentes tempos: 5, 12 e 24 horas, para diferentes formas de armazenamento, à temperatura ambiente (25°C) e a 4°C, dividido pela raiz quadrada de 2. O coeficiente de variação analítico CVa% foi assumido como a razão entre o ET e a média de todos os valores observados. A confiabilidade dos resultados foi avaliada pelo CVa (%), dentro da variação analítica máxima permitida, 4.6% para contagem de plaquetas, 2.2% para o VPM, 1.4% para o PDW e 6.0% para o PCT¹⁵, assim como pela diferença de média dos resultados em relação à amostra de base (2 horas). Os dados foram analisados utilizando o programa SPSS 20® (IBM Corp., Armonk, NY, USA) e o nível de significância foi considerado quando $p < 0.05$.

RESULTADOS

No total, foram avaliados 351 hemogramas de indivíduos com idade média de 34 ± 10 anos, com contagem de plaquetas dentro dos valores de referência. A Tabela 1 demonstra a variabilidade analítica dos parâmetros plaquetários em amostras com a relação sangue/anticoagulante normal e alterada, em diferentes temperaturas de armazenamento (25°C e 4°C) e tempos de estocagem avaliados no estudo (5, 12 e 24 horas após a coleta), com relação as amostras *baseline* (2 horas).

Apenas a contagem de plaquetas apresentou reprodutibilidade dos resultados até 24 horas, independente da relação sangue/anticoagulante e da forma de armazenamento (Tabela 1). Os parâmetros VPM, PDW e PCT exibiram imprecisão dos resultados, ou seja, os CVa foram superiores ao valor máximo permitido para todas as condições estudadas (Tabela 1).

A Figura 1 demonstra a comparação das médias dos parâmetros plaquetários das amostras com relação sangue/anticoagulante normal e alterada, armazenadas em temperatura ambiente (25°C) e em temperatura de 4°C, nos diferentes tempos avaliados no estudo, com relação aos resultados *baseline* (2 horas).

Para as amostras com relação sangue/anticoagulante normal, a contagem de plaquetas apresentou diferença significativa apenas a 4°C a partir de 24 horas ($p=0.049$) (Figura 1 A). Enquanto para as amostras com relação sangue/anticoagulante alterada, houve diferença significativa a 4°C a partir de 5 horas ($p=0.017$) e em temperatura ambiente a partir de 12 horas (Figura 1 A).

A partir de 5 horas de estocagem os valores médios do VPM diminuíram significativamente ($p < 0.020$) com relação às amostras analisadas em até 2 horas após a coleta para todas as condições avaliadas no estudo (Figura 1 B).

O PDW não apresentou diferença de média para as amostras armazenadas em temperatura ambiente tanto para relação sangue/anticoagulante normal como para alterada (Figura 1 C). No entanto, nas amostras armazenadas a 4°C houve aumento significativo dos valores médios para as amostras com relação sangue/anticoagulante normal ($p < 0.033$) e alterada ($p < 0.004$) a partir de 5 horas (Figura 1 C).

O PCT demonstrou diminuição significativa a partir de 5 horas, sendo que nas amostras mantidas a temperatura ambiente, tanto a relação sangue/anticoagulante normal como a alterada apresentaram os mesmos valores médios (Figura 1 D). As amostras mantidas a 4°C também apresentaram os mesmos valores médios, com sobreposição dos valores no gráfico (Figura 1 D).

Figura 1. Comparação dos resultados das médias para as amostras com relação sangue/anticoagulante normal e alterada, entre a amostra *baseline* (2 horas) e os diferentes tempos de estocagem 5, 12 e 24 horas, para diferentes formas de armazenamento: temperatura ambiente (25°C) e temperatura de 4°C. *diferença estatística significativa, $p < 0.05$.

DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram imprecisão para alguns parâmetros plaquetários, emitidos pelo Cell Dyn Ruby® até 24 horas, independente da relação sangue/anticoagulante e da forma de armazenamento.

Tabela 1. Variação analítica entre as amostras *baseline* (2 horas) e os tempos de estocagem (5 até 24 horas) em temperatura ambiente e 4°C, para as amostras com relação sangue/anticoagulante normal e alterada.

Parâmetros	CVa (%) Máximo permitido	Relação Sangue/Anticoagulante Normal					
		Temperatura Ambiente			4°C		
		Tempos de estocagem					
		5 horas ET (CV%)	12 horas ET (CV%)	24 horas ET (CV%)	5 horas ET (CV%)	12 horas ET (CV%)	24 horas ET (CV%)
Plaquetas (10 ³ células/mL)	4.6	9.31 (3.90)	8.68 (3.65)	9.09 (3.82)	9.72 (4.06)	8.94 (3.75)	10.56 (4.35)
VPM (fL)	2.2	0.36 (3.96)*	0.44 (4.91)*	0.42 (4.75)*	0.45 (4.85)*	0.54 (5.94)*	0.70 (7.61)*
PDW (%)	1.4	0.49 (2.50)*	0.50 (2.54)*	0.55 (2.39)*	0.65 (3.30)*	0.58 (2.95)*	0.72 (3.62)*
PCT (%)	6.0	0.01 (6.31)*	0.01 (6.87)*	0.02 (7.89)*	0.02 (8.66)*	0.02 (7.24)*	0.02 (8.95)*
		Relação Sangue/Anticoagulante Alterada					
Plaquetas (10 ³ células/mL)	4.6	9.28 (3.90)	9.91 (4.19)	10.38 (4.38)	8.97 (3.79)	8.32 (3.52)	8.63 (3.59)
VPM (fL)	2.2	0.43 (4.71)*	0.54 (6.09)*	0.54 (6.09)*	0.40 (4.37)*	0.50 (5.39)*	0.62 (6.74)*
PDW (%)	1.4	0.52 (2.67)*	0.67 (3.42)*	0.67 (3.42)*	0.52 (2.67)*	0.60 (3.03)*	0.61 (3.06)*
PCT (%)	6.0	0.02 (7.21)*	0.02 (7.97)*	0.02 (8.07)*	0.01 (6.63)*	0.01 (6.19)*	0.02 (8.33)*

*Imprecisão, CVa (%) maior que o máximo permitido. CVa, coeficiente de variação analítico. ET, erro típico.

A contagem total de plaquetas foi o único parâmetro avaliado que apresentou reprodutibilidade de resultados nos dois modos de armazenamento durante o período de estocagem, de acordo com o CVa% máximo permitido dos analisadores hematológicos de última geração (CVa inferior a 4,6%).

Qualquer método automatizado usado para contagem de plaquetas deve ser preciso, demonstrar flutuação mínima em resultados repetidos na mesma amostra e apresentar resultados lineares em toda a faixa analítica¹⁶. A contagem de plaquetas apresentou decréscimo até o tempo de estocagem de 12 horas em todos os modos de armazenamento; entretanto, as amostras refrigeradas a 4°C tiveram aumento na contagem em 24 horas de estudo. Porém, a variabilidade das médias foi mínima, oscilando de 240.000 a 246.000 plaquetas/mL, em todo o período analisado. Esses resultados estão de acordo com um estudo de Tanaka *et al.* (2014), em que se verificou que a contagem de plaquetas mantiveram-se estáveis por até 48 horas em amostras armazenadas a 4°C ou a temperatura ambiente¹⁷.

O VPM reflete o volume médio das plaquetas em circulação e correlaciona-se com a função plaquetária, podendo ser mais sensível do que

a contagem de plaquetas como biomarcador de diversas patologias¹⁸. Os resultados do VPM demonstraram imprecisão dos valores, com coeficientes de variação superiores 2.2%, nos dois modos de armazenamento, independente da relação sangue/anticoagulante e do tempo de estocagem. Além disso, houve diminuição das médias em todas as análises durante todo o tempo de estocagem. Deve ser destacado que nas amostras armazenadas em temperatura ambiente houve diminuição de aproximadamente 1.0 fL nos valores médios de VPM, em até 24 horas. A instabilidade desse parâmetro também foi observada em outros estudos tanto para amostras refrigeradas como para temperatura ambiente¹⁹⁻²¹. Os resultados obtidos contradizem um estudo desenvolvido por Daves *et al.* (2015) que observaram um aumento significativo para o VPM, após 3 horas, à temperatura ambiente e apenas após 24 horas, quando refrigerado a 4°C, utilizando o analisador Sysmex XN^{®19}. Gunawardena *et al.* (2017) avaliaram o Sysmex XS 500i[®] e observaram um aumento significativo para o VPM após 6 horas, à temperatura ambiente e após 24 horas quando refrigerado a 4°C²⁰. Hedberg *et al.* (2009) utilizaram o equipamento Abbott CELL-DYN Sapphire[®] e demonstraram aumento mínimo do VPM

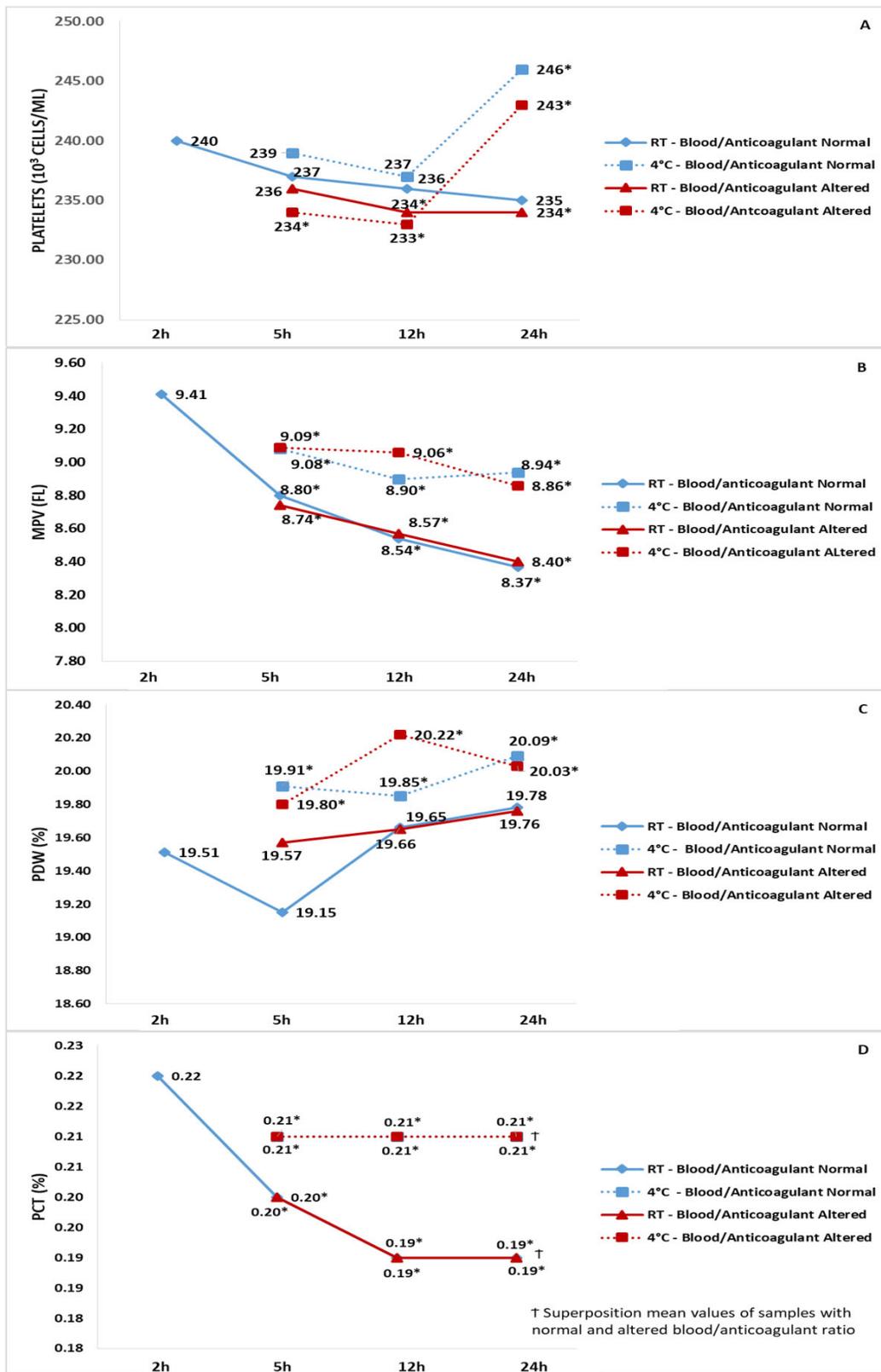


Figura 1. Comparação dos resultados das médias para as amostras com relação sangue/anticoagulante normal e alterada, entre a amostra baseline (2 horas) e os diferentes tempos de estocagem 5, 12 e 24 horas, para diferentes formas de armazenamento: temperatura ambiente (25°C) e temperatura de 4°C. *diferença estatística significativa, p<0.05.

somente entre 48 e 72 horas, quando refrigerado a 4°C²¹. Os trabalhos citados anteriormente¹⁹⁻²¹, mesmo utilizando analisadores hematológicos diferentes, ambos utilizaram o anticoagulante EDTA K2, enquanto o presente estudo utilizou o EDTA K3 e parece que o EDTA K3 tende a apresentar valores menores para o VPM²².

Outra possível explicação para essa divergência de informações pode estar relacionada à metodologia empregada, impedância ou óptica, para a mensuração desse parâmetro. Como por exemplo, na metodologia de impedância o VPM tende a aumentar ao longo do tempo, devido ao inchaço das plaquetas provocado pelo anticoagulante EDTA²³. Essa metodologia tem como base a mensuração de oscilações de uma corrente elétrica durante a passagem das células sanguíneas, por meio de um pequeno orifício situado entre dois eletrodos. A partir dessa alteração da corrente, um impulso elétrico proporcional ao volume da célula é gerado. O somatório dos pulsos fornece o valor do plaquetócrito (PCT), análogo ao hematócrito. A partir desses valores, o VPM é obtido pela fórmula: $VPM = PCT * PLT^{16}$. Segundo, Bowles *et al.* (2005), pode ocorrer um aumento inicial de 7,9% e um aumento geral de 13,4%, ao longo de 24 horas²⁴. Porém, esse aumento do tamanho das plaquetas pode ser aproximadamente menor 0.5 fL, quando a análise é realizada dentro de 2 horas após a punção venosa²⁵.

No entanto, na metodologia de sistemas ópticos de espalhamento de luz o VPM tende a diminuir, devido a uma possível diluição do conteúdo citoplasmático levando a uma diminuição do índice de refração²⁶. Uma possível explicação para a redução do índice de refração é a exposição ao anticoagulante EDTA, capaz de alterar a permeabilidade da membrana citoplasmática e ocasionar a diminuição da densidade óptica no decorrer do tempo de estocagem²⁷. No presente estudo, o VPM foi determinado pela média do volume das plaquetas contabilizadas obtida do histograma de distribuição, no equipamento Cell Dyn Ruby®, utilizando o sistema óptico, com consequente diminuição das médias em todas as análises do estudo.

Portanto, o VPM pode aumentar quando determinado pelo método de impedância e diminuir quando determinado pelo método óptico, de acordo com o tempo de estocagem da amostra biológica. Além disso, em algumas situações, as diferenças entre as duas metodologias podem ser frequentemente ampliadas por uma espécie de "hipersensibilidade" ao EDTA, que é acompanhada por mudanças na morfologia plaquetária²⁸.

O PCT corresponde ao volume total de plaquetas em um determinado volume de sangue e pode ser calculado de acordo com a fórmula $PCT = PLT * VPM / 10.000^{14}$, sendo análogo ao hematócrito da série vermelha do hemograma. Como em condições fisiológicas, a quantidade de plaquetas no sangue é mantida em estado de equilíbrio por regeneração e eliminação¹⁴ e o PCT é diretamente proporcional ao VPM; os resultados de PCT também obtiveram tendência de diminuição em todas as análises do estudo. Porém, a variabilidade das médias foram mínimas, oscilando de 0.22% a 0.19%, em todo o período analisado, sendo que o intervalo normal para PCT pode ser considerado entre 0.22% a 0.24%¹⁴.

O PDW indica a heterogeneidade dos volumes plaquetários, indicando a presença de anisocitose plaquetária, obtido no nível de 20% do histograma de distribuição do tamanho plaquetário¹⁴. Para todas as amostras estocadas sob refrigeração a 4°C, independente da relação sangue/anticoagulante, houve aumento dos valores médios a partir de 5 horas. Porém, a variabilidade das médias foi mínima, oscilando de 19.80% a 20.09%, em todo o período analisado. O PDW pode apresentar uma variabilidade acentuada, com intervalos de referência variando de 8.3% a 56.6%¹⁴.

CONCLUSÃO

A partir da avaliação dos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que em ambas as temperaturas de estocagem, tanto temperatura ambiente quanto refrigerada a 4°C, e em ambas as relações de anticoagulante/sangue (normal/alterada) é possível ocorrer alterações significativas em alguns parâmetros plaquetários, analisados no equipamento Cell Dyn Ruby®, a partir de 5 horas após a coleta. Apesar desses parâmetros já serem disponibilizados pela maioria dos contadores hematológicos de última geração, ainda são tão pouco compreendidos como utilizados tanto na prática médica, como laboratorial. Entretanto, conhecer as variáveis que podem interferir nos valores dos índices plaquetários se faz necessário para garantir a confiabilidade dos exames.

Portanto, foi demonstrado que os fatores pré-analíticos, como a temperatura de armazenamento e o tempo de estocagem, podem afetar a variabilidade dos parâmetros plaquetários, podendo produzir resultados equivocados. Deste modo, deve-se respeitar a correta relação sangue/anticoagulante e evitar o processamento tardio da amostra.

REFERÊNCIAS

- Baccini V, Geneviève F, Jacqmin H, et al. Platelet counting: Ugly traps and good advice. proposals from the french-speaking cellular hematology group (gfhc). *J Clin Med* 2020; 9: 808.
- Pogorzelska K, Krętowska A, Krawczuk-Rybak M, et al. Characteristics of platelet indices and their prognostic significance in selected medical condition – a systematic review. *Adv Med Sci* 2020; 65: 310–315.
- Ikeda K, Ichihara K, Hashiguchi T, et al. Evaluation of the short-term stability of specimens for clinical laboratory testing. *Biopreserv Biobank* 2015; 13: 135–143.
- Zini G. Stability of complete blood count parameters with storage: Toward defined specifications for different diagnostic applications. *Int J Lab Hematol* 2014; 36: 111–113.
- Lippi G, Salvagno GL, Solero G Pietro, et al. Stability of blood cell counts, hematologic parameters and reticulocytes indexes on the Advia A120 hematologic analyzer. *J Lab Clin Med* 2005; 146: 333–340.
- Mrazek C, Lippi G, Keppel MH, et al. Errors within the total laboratory testing process, from test selection to medical decision-making – A review of causes, consequences, surveillance and solutions. *Biochemia Medica* 2020; 30: 1–19.
- Dalanhol M, Barros M, Mazuchelli J, et al. Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico nas determinações do hemograma automatizado. *Rev Bras Hematol Hemoter*; 32. Epub ahead of print February 2010. DOI: 10.1590/s1516-84842010005000011.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the Handling and Processing of blood Specimens for Common Laboratory Tests. Approved guideline. 4th ed. Wayne: CLSI 2010; 30: 1–68.
- Sousa ACN, Rodrigues Junior OM. Principais erros na fase pré-analítica de exames laboratoriais: uma revisão bibliográfica integrativa. *Res Soc Dev* 2021; 10: e261101523662.
- Oliveira LR, Simionatto M, Cruz BR, et al. Stability of complete blood count in different storage conditions using the ABX PENTRA 60 analyzer. *Int J Lab Hematol* 2018; 40: 359–365.
- Seniv L, Simionatto M, Cruz BR, et al. Analysis of temperature, time and blood/anticoagulant ratio in the complete blood count. *Rev Bras Análises Clínicas*; 49. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.21877/2448-3877.201600545.
- Buttarelo M. Quality specification in haematology: The automated blood cell count. In: *Clinica Chimica Acta*. Clin Chim Acta, pp. 45–54.
- Hopkins WG. Measures of reliability in sports medicine and science. *Sports Medicine* 2000; 30: 1–15.
- Budak YU, Polat M, Huysal K. The use of platelet indices, plateletcrit, mean platelet volume and platelet distribution width in emergency non-traumatic abdominal surgery: a systematic review. *Biochem Medica* 2016; 26: 178.
- Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C SM. Desirable biological variation database specifications. *Westgard* 2014; 1–2.
- Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count. *Int J Lab Hematol* 2007; 29: 77–91.
- Tanaka Y, Tanaka Y, Gondo K, et al. Performance Evaluation of Platelet Counting by Novel Fluorescent Dye Staining in the XN-Series Automated Hematology Analyzers. *J Clin Lab Anal* 2014; 28: 341–348.
- Schmoeller D, Picarelli MM, Munhoz TP, et al. Mean platelet volume and immature platelet fraction in autoimmune disorders. *Frontiers in Medicine* 2017; 4: 6.
- Daves M, Zagler EM, Cemin R, et al. Sample stability for complete blood cell count using the Sysmex XN haematological analyser. *Blood Transfus* 2015; 13: 576–582.
- Gunawardena D, Jayaweera S, Madhubhashini G, et al. Reliability of Parameters of Complete Blood Count With Different Storage Conditions. *J Clin Lab Anal* 2017; 31: 1–6.
- Hedberg P, Lehto T. Aging stability of complete blood count and white blood cell differential parameters analyzed by Abbott CELL-DYN Sapphire hematology analyzer. *Int J Lab Hematol* 2009; 31: 87–96.
- Mehmood R, Muhammed RK, Hussain S, et al. Evaluation of di-potassium and tri-potassium EDTA evacuated tubes for routine haematological testing. *J Clin Lab Anal*; 32. Epub ahead of print 1 January 2018. DOI: 10.1002/jcla.22188.
- Dastjerdi MS, Emami T, Najafian A, et al. Mean platelet volume measurement, EDTA or citrate? *Hematology* 2006; 11: 317–319.
- Bowles KM, Cooke LJ, Richards EM, et al. Platelet size has diagnostic predictive value in patients with thrombocytopenia. *Clin Lab Haematol* 2005; 27: 370–373.
- Endler G, Klimesch A, Sunder-Plassmann H, et al. Mean platelet volume is an independent risk factor for myocardial infarction but not for coronary artery disease. *Br J Haematol* 2002; 117: 399–404.
- Patterson K. Platelet parameters generated by automated blood counters. *C Bull Haematol*, 1997.
- Diaz-Ricart M, Brunso L, Pino M, et al. Preanalytical treatment of EDTA-anticoagulated blood to ensure stabilization of the mean platelet volume and component measured with the ADVIA counters. *Thromb Res*; 126. Epub ahead of print 2010. DOI: 10.1016/j.thromres.2010.04.002.
- Banfi G, Salvagno GL, Lippi G. The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 565–576.

Contribuição dos autores:

DCKB, MJW e MFM contribuíram para a concepção e desenho do estudo. MJW contribuiu para a aquisição de dados. DCKB realizou as análises estatísticas. MJW e DCKB interpretaram os resultados e prepararam o manuscrito. MFM e DCKB avaliaram criticamente o manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Conflito de interesse:

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

Agradecimentos:

Os autores agradecem ao Vitale Laboratório de Análises Clínicas Ltda pela viabilização deste estudo.

Autor Correspondente:

Danielle Cristyane Kalva-Borato
dckalva@hotmail.com

Editor:

Prof. Dr. Paulo Henrique Manso

Recebido: 18/11/2021

Aprovado: 23/05/2022
