

USO DE AMOSTRA CONTROLE NA AVALIAÇÃO DA REPRODUTIBILIDADE DE EQUIPAMENTOS SEMI-AUTOMATIZADOS EM HEMATOLOGIA LABORATORIAL: UMA PROPOSTA DE CONTROLE DE QUALIDADE PARA LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA.

Marcos Antônio Gonçalves MUNHOZ**
Elena Yoko GUSHIKEN**
Nilce Rodrigues PACHECO**
Silvana Beatriz CAMPA**
Cecília KITAMURA**
Raymundo Soares de AZEVEDO NETO***

RIALA6/707

MUNHOZ, M. A. G.; GUSHIKEN, E. Y.; PACHECO, N. R.; CAMPA, S. B.; KITAMURA, C. & AZEVEDO NETO, R. S. — Uso de Amostra Controle na avaliação da Reprodutibilidade de Equipamentos Semi-automatizados em Hematologia Laboratorial: Uma proposta de Controle de Qualidade para Laboratórios de Saúde Pública. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 51 (1/2):41-45, 1991.

RESUMO: A Seção de Hematologia da Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz, Laboratório Central, utiliza na calibração de seus equipamentos hematológicos semi-automatizados padrões comerciais nacionais e internacionais, padrões preparados pela própria seção, e uma amostra de sangue humano triada da rotina diária, usada como padrão secundário. A ênfase do presente trabalho é voltada para a utilização dessa amostra como técnica de controle de qualidade em hematologia, mais especificamente para o controle diário da reprodutibilidade de equipamentos semi-automatizados. Esta técnica de amostra controle é aplicada em nossa seção desde 1987, e os resultados obtidos são apresentados em função dos coeficientes de variação encontrados para cada uma das determinações estudadas, e estas relacionadas à técnica manual correspondente através de regressão linear.

DESCRITORES: Controle de qualidade, hematologia, amostra controle, equipamentos automáticos.

INTRODUÇÃO

Os laboratórios de Saúde Pública incluem no conjunto de suas funções o monitoramento das condições patológicas que afetam uma determinada população alvo. Esta característica de acompanhamento exige que valores obtidos através de procedimentos analíticos diferentes sejam comparáveis a qualquer momento, sendo portanto fundamental a utilização de técnicas de controle de qualidade para garantir a reprodutibilidade dos processos laboratoriais.

A análise hematológica vem adquirindo um perfil cada vez mais objetivo, valendo-se de métodos mais quantitativos do que qualitativos, sem entretanto desprezar os conhecimentos morfológicos tradicionais, importantíssimos no diagnóstico hematológico. Dentre estes avanços está a contagem de células sanguíneas através de equipamentos eletrônicos, alguns realizando inclusive contagens diferenciais de Leucócitos por métodos automatizados^{3,12}.

Os contadores celulares, automatizados ou semi-

* Realizado na Seção de Hematologia da Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz, Laboratório Central e na Disciplina de Informática Médica do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

automatizados, têm uma grande capacidade de produção associada a uma reprodutibilidade muito boa. Porém há que se considerar a necessidade de um rigoroso controle dos procedimentos que culminam com a obtenção de resultados numéricos.

Diante da possibilidade não desprezível de falhas no processo analítico, impõe-se um controle eficiente do processo que aponte os erros que porventura aconteçam.

Para tanto existem técnicas de controle de qualidade aplicáveis às contagens celulares automatizadas: padrão de micropartículas de látex, padrão de sangue de aves, padrão de sangue humano ou de outro mamífero^{7,13,19} e amostra controle.

Os padrões comerciais têm um custo operacional relativamente alto quando comparados à amostra controle, ficando assim reservados à calibração freqüente dos equipamentos.

Já a amostra controle é usada nos procedimentos ao longo da rotina e como padrão secundário na calibração diária dos aparelhos eletrônicos, em comparação com contagens celulares em câmara de Neubauer e dosagens de hemoglobina em espectrofotômetro calibrado¹⁶.

Autores como BRITTON⁴, DAVIDSOHN & NELSON⁸, MIALE¹⁵ E PLATT¹⁷, descrevem em detalhes os principais erros observados nas contagens celulares em câmara de Neubauer, e apresentam alternativas que minimizam esses erros.

As dosagens de hemoglobina pelo método manual colorimétrico de referência^{21,22} apresentam facilidades técnicas de execução e boa reprodutibilidade.

O objetivo deste trabalho é analisar o desempenho da técnica de amostra controle em laboratório de hematologia, tendo em vista uma proposta de controle de qualidade factível para nossa realidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Amostra de sangue humano triada da rotina diária (5,0 ml de volume colhido em tubo a vácuo, com EDTA), com valores hematimétricos dentro da faixa de normalidade para adultos sadios, denominada amostra controle.

2. Determinação do valor do microhematócrito da amostra controle em tubo capilar, através de microcentrifuga¹⁰.

3. Confecção de duas extensões de sangue da amostra controle em lâminas de vidro, coradas

com corante panóptico (Leishman)¹⁴.

4. Contagem em duplicata de eritrócitos e leucócitos da amostra controle, em Câmara de Neubauer modificada¹. Cálculo da média aritmética.

5. Dosagem em triplicata da hemoglobina da amostra controle pelo método da cianometahemoglobina^{21,22} em espectrofotômetro calibrado¹⁶. Cálculo da média aritmética.

6. As médias aritméticas dos valores manuais foram consideradas como "valores reais" (padrão secundário).

7. Contagens de eritrócitos, leucócitos e dosagem de hemoglobina da amostra controle, através de contador celular e hemoglobinômetro semi-automatizados*, em 11 replicatas. Cálculo das médias aritméticas (\bar{x}), desvios padrão (SD), e coeficientes de Variação (CV), desses valores replicados⁹.

Valores replicados muito distantes da média aritmética ou além dos limites aceitáveis de erro, devem ser desprezados para novo cálculo da média aritmética, desvio padrão e coeficiente de variação^{2,5,18}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

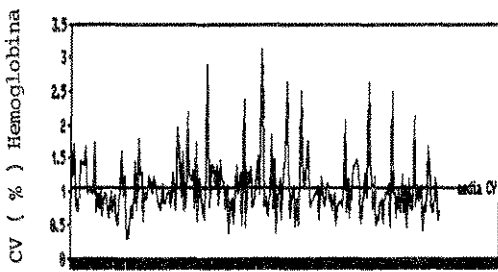
A amostra controle é um recurso de aplicação simples no controle de qualidade em laboratório de hematologia, quer para avaliação de contagens de células sanguíneas, quer para a dosagem de hemoglobina. Reúne as vantagens de custo operacional baixo e de ser o próprio objeto de análise.

Um bom critério para se verificar a precisão de equipamentos automáticos e semi-automáticos ao longo do tempo é o coeficiente de variação calculado a partir de 11 replicatas da amostra controle para as contagens de eritrócitos, leucócitos, e dosagens de hemoglobina. Em 30.063 determinações realizadas por nós num período de 3 anos, admitimos como coeficiente de variação máximo para essas análises o valor de 5%, sendo que é possível estabelecer uma meta mais exigente à medida que se domine as técnicas de controle de qualidade e que se aprimora a reprodutibilidade dos equipamentos.

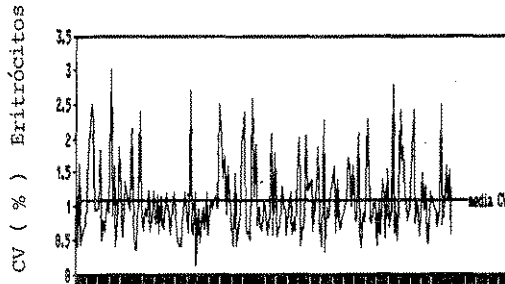
Podemos observar que as amostras controle quando estudadas em aparelho calibrado diariamente, apresentaram Coeficientes de Variação menores que 5% em qualquer análise realizada, como mostram as Figuras 1, 2 e 3.

Tais dados demonstram um desempenho eficiente do aparelho e estabelecem para o Controle de

* SYSMEX Microcoulter, modelo CC 110



dias de rotina



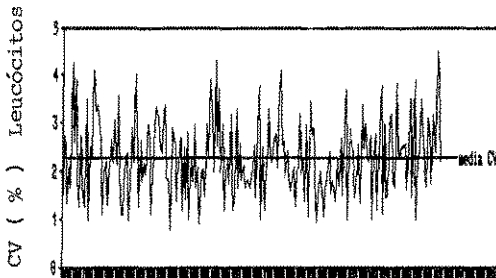
dias de rotina

FIGURA 1

Representação gráfica dos Coeficientes de Variação das dosagens de Hemoglobina realizadas em aparelho semi-automatizado, no período de 3 anos.

FIGURA 2

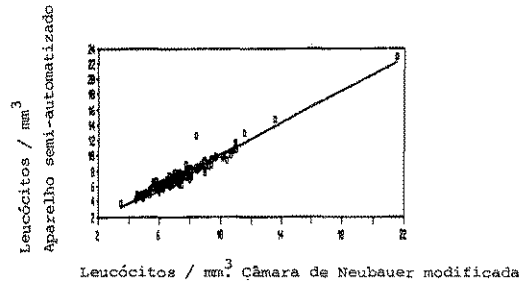
Representação gráfica dos Coeficientes de Variação das contagens de Eritrócitos realizadas em aparelho semi-automatizado, no período de 3 anos.



dias de rotina

FIGURA 3

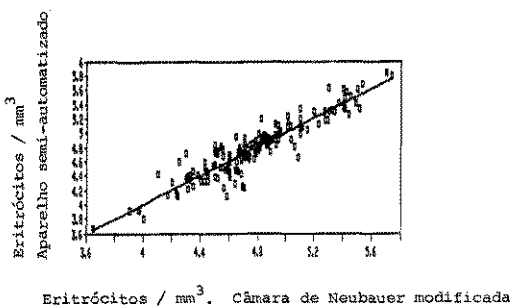
Representação gráfica dos Coeficientes de Variação das contagens de Leucócitos realizadas em aparelho semi-automatizado, no período de 3 anos.



Leucócitos / mm³ Câmara de Neubauer modificada

FIGURA 4

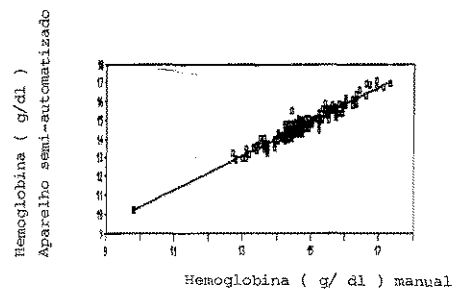
Gráfico de Regressão linear das contagens de leucócitos obtidas em aparelho semi-automatizado e Câmara de Neubauer modificada, no período de 3 anos. $r = 0,966637$



Eritrócitos / mm³. Câmara de Neubauer modificada

FIGURA 5

Gráfico de Regressão linear das contagens de eritrócitos obtidas em aparelho semi-automatizado e Câmara de Neubauer modificada, no período de 3 anos. $r = 0,928183$



Hemoglobina (g/dl) manual

FIGURA 6

Gráfico de Regressão linear das dosagens de Hemoglobina obtidas em aparelho semi-automatizado e pelo método manual da Cianometahemoglobina, no período de 3 anos. $r = 0,96579$

Qualidade valores limítrofes, que quando superados indicam a presença de erros que devem ser corrigidos imediatamente.

Os gráficos de Regressão Linear das contagens de leucócitos, eritrócitos e dosagens de hemoglobina dos métodos manuais e automatizados apresentaram Coeficientes de Regressão²⁰ próximos a 1, demonstrando a boa correlação entre estes métodos, ilustrada nas Figuras 4, 5 e 6.

O valor do microhematócrito é utilizado como controle empírico das contagens de eritrócitos e dosagens de hemoglobina manual e por aparelho¹¹

Os esfregaços de sangue da amostra controle, quando examinados em microscópio óptico comum, orientam quanto ao tamanho das hemácias, detectam a presença eventualmente excessiva de grandes plaquetas que podem falsear o valor global de leucócitos, e informam o número aproximado de leucócitos/mm³⁶.

Valores replicados obtidos por contagens automatizadas, que eventualmente se distanciam demasiadamente da média aritmética ou fiquem fora dos limites aceitáveis de erro ($\bar{X} \pm 2.SD$), podendo elevar consideravelmente o valor do coeficiente de variação, devem ser desprezados. Com a retirada desses valores deslocados ao acaso, recalculamos os novos valores da média aritmética, do desvio padrão e do coeficiente de variação^{2,5,18}.

Segundo EBNER*, deve-se desprezar no máximo 1 valor em 11, pois valores deslocados ao acaso não devem ultrapassar de 10% do total de replicatas. O aparecimento de mais de um valor deslocado implica na necessidade de medidas corretivas específicas.

Sugerimos que as médias aritméticas dos valores replicados da amostra controle, obtidos no aparelho, não variem mais do que 3% dos "valores reais" dos leucócitos e eritrócitos, e não mais do que 1% do "valor real" da hemoglobina, obtidos pelos métodos manuais. Variações acima dessas porcentagens não devem ser aceitas. É preciso determinar novamente os valores manuais e automatizados para efeito de nova calibração do aparelho.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos com este trabalho, é possível estabelecer uma proposta de controle de qualidade interno em laboratório de hematologia, para contagem de células e dosagem de hemoglobina em equipamentos automatizados, nos seguintes termos:

1. Triar da rotina diária uma amostra controle (padrão secundário).
2. Com esta amostra, confeccionar dois esfregaços de sangue e corá-los com corante panóptico.
3. Determinar manualmente com esta amostra:
 - o hematócrito;
 - o número de eritrócitos e leucócitos em duplicata;
 - o valor da hemoglobina em triplicata.

Calcular as médias aritméticas e considerá-las como "valores reais".

4. Determinar no aparelho, através de 11 replicatas desta amostra, os valores de eritrócitos, leucócitos e hemoglobina. Calcular a média aritmética, o desvio padrão e o coeficiente de variação.

Considerar o aparelho reprodutivo quando os coeficientes de variação das dosagens de hemoglobina, contagens de eritrócitos e leucócitos não ultrapassarem o limite de 5%.

5. Com o aparelho calibrado, iniciar a rotina e a cada 20 amostras de pacientes, introduzir a amostra controle para detectar eventual perda da calibração do equipamento.

6. Verificar a exatidão dos aparelhos com o uso diário de padrões primários.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos funcionários das Seções de Recepção & Colheita de Material e de Hematologia da Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz, pela enorme colaboração prestada na coleta do material e nas análises de Controle de Qualidade.

RIALA6/707

MUNHOZ, M. A. G.; GUSHIKEN, E. Y.; PACHECO, N. R.; CAMPA, S. B.; KITAMURA, C. & AZEVEDO NETO, R. S.; — Using Control Sample for the Evaluation of Automatic Equipment Reproducibility in the Hematology Laboratory: A Proposition for Quality Control in Public Health Laboratories. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 51 (1/2):41-45, 1991.

* EBNER, P. A. R. — Comunicação pessoal. Seção de Controle de Qualidade do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

MUNHOZ, M. A. G.; GUSHIKEN, E. Y.; PACHECO, N. R.; CAMPA, S. B.; KITAMURA, C. & AZEVEDO NETO, R. S. — Uso de Amostra Controle na avaliação da Reprodutibilidade de Equipamentos Semi-automatizados em Hematologia Laboratorial: Uma proposta de Controle de Qualidade para Laboratórios de Saúde Pública. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 51 (1/2):41-45, 1991.

ABSTRACT: The automatic equipment for cell counting and hemoglobin dosage has its calibration made by the staff of the Hematology Section of the Pathology Division in the Adolfo Lutz Institute (São Paulo, Brazil) using international and national standards, standards prepared in the section and a secondary standard (a sample from the routine). This paper presents our experience with this sample as a quality control technique in hematology, specially for the daily monitoring of the automatic equipment reproducibility. The control sample technique has been applied in our section since 1987, and the results are discussed through the variation coefficient found for each analysis studied. A regression is made between the manual and the automatic technique.

DESCRIPTORS: quality control, hematology, control sample, automatic equipment.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAKER, F. J. & SILVERTON, R. E. — *Introduction to medical laboratory technology*. 6th ed. London, Butterworths, 1985. p. 320-4.
2. BARNETT, R. N.; GAMBINO, S. R.; AMENTA, J. S.; HOFFMAN, R. G. & SKENDZEL, L. P. — *Statistical methods in the clinical laboratory*. Chicago, American Society of Clinical Pathologists, 1968. p. 69-70, 82, 86.
3. BAUER, J. D. — *Clinical laboratory methods* 9th. ed. St. Louis, C. V. Mosby, 1982, p. 180-2.
4. BRITTON, C. J. C.; HAYHOE, F. G. J. & TOVEY, G. H. — *Disorders of the blood: diagnosis, pathology, treatment, technique*. 9th ed. London, J. A. Churchill, 1963. p. 727-8.
5. BUENO, W. A. & DEGREVE, L. — *Manual de laboratório físico-química*. São Paulo, McGraw-Hill, 1980. p. 10-4.
6. CARVALHO, W. F. — *Técnicas médicas de hematologia e imunohematologia*. 2ª ed. Belo Horizonte, Coop. Ed. Cult. Médica, 1978. p. 228.
7. DACIE, J. V. & LEWIS, S. M. — *Practical haematology*. 5th. ed. London, Churchill Livingstone, 1975, p. 58-60.
8. DAVIDSOHN, I. & HENRY, J. B. — *Diagnóstico clínico por el laboratorio*. 6ª ed. Barcelona, Salvat Editores, 1978. p. 122-4, 127-8.
9. DORSEY, D. B.; DIGGS, L. W.; SHANBERGE, J. N. & RIGAL, R. D. — *Hematology*. Chicago, American Society of Clinical Pathologists, 1968, p. 18-20.
10. EVATT, B. L.; LEWIS, S. M.; LOTHE, F. & McARTHUR, J. R. — *Anemia: fundamental diagnostic hematology*. Atlanta, CDC; Geneva, WHO, 1983. p. 67-70. (CDC Lab Manual).
11. GULATI, G. & HYUN, B. H. — Quality control in hematology. *Clin. Lab. Med.* 6 (4): 675-88, 1986.
12. HALL, R. & MALIA, R. G. — *Medical laboratory haematology*. London, Butterworths, 1984. p. 191-203.
13. LEWIS, S. M. — El plan internacional de la OMS de evaluación externa de la calidad en hematología. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 106(5):407-19, 1989.
14. LIMA, A. O.; SOARES, J. B.; GRECO, J. B.; GALIZZI, J. & CANÇADO, J. R. — *Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação*. 6ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1985. p. 416-9.
15. MIALE, J. B. — *Laboratory medicine hematology*. 6th. ed. St. Louis, C. V. Mosby, 1982. p. 370-1, 862-4.
16. MOURA, R. A. A.; et alii — *Técnicas de laboratório*. 3ª ed. Rio de Janeiro, Atheneu, 1987. P. 13-4.
17. PLATT, W. R. — *Atlas de hematologia en color*. Barcelona, Editorial Jims, 1972. p. 33-4, 72-5.
18. RAPHAEL, S. S. — *Lynch's medical laboratory technology*. 4th. ed. Tokyo, Igaku — Shoin/Saunders, 1983. p. 47-8.
19. SONNENWIRTH, A. C. & JARETT, L. — *Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis*. 8th. ed. St. Louis, C. V. Mosby, 1980. p. 631-2.
20. STRUFALDI, B. — *Obtenção de amostras, espectrofotometria, controle de qualidade*. São Paulo, McWill Ed, 1981. p. 100-5.
21. VAN ASSENDELFT, O. W.; HOLTZ, A. H. & LEWIS, S. M. — *Recommended method for the determination of the haemoglobin concentration of blood*. Geneva, WHO, 1984. p. 1-12. (WHO/LAB/84.10).
22. WINTROBE, M. M. — *Hematologia clínica*. 4ª ed. Buenos Aires, Inter-Médica, 1979. p. 113-5.

Recebido para publicação em 21 de agosto de 1990.

