



Vol. 4, N° 2, Año 2000

PREPARACIÓN DE UNA MUESTRA DE SANGRE PARA CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO HEMATOLÓGICO

*González, Julio César (1); Travieso, Fabiola (2); Virguez, Yuleny (3);
Pérez, Helen (4); González R; Dora C. (5)*

RESUMEN

La falta de muestras controles apropiadas en el área de hematología y su alto costo, ha llevado a que en los laboratorios clínicos no se lleve a cabo el control de calidad en las determinaciones hematológicas. Con el propósito de mejorar la calidad de su desempeño los laboratorios deben implementar Programas de Control interno; por tal razón el objetivo fue elaborar una muestra de sangre para control de calidad en el laboratorio de hematología y determinar la capacidad conservadora de los aditivos y la concentración apropiada de éstos. La metodología utilizada para la elaboración de la muestra de sangre control fue la adición de diferentes aditivos a concentraciones diferentes a una muestra de sangre humana fresca, exenta de leucocitos eliminados por medio de centrifugación sustituidos por células rojas aviarlas previamente fijadas. La determinación de los parámetros hematológicos se realizó con un equipo automatizado (CELL-DYN 1400) y por métodos manuales, siendo evaluadas en diferentes laboratorios clínicos basándose en cálculos estadísticos y la elaboración de la gráfica de Levey y Jennings. Los resultados son: se ensayaron 4 aditivos (ATP; INOSINA; CDPATP; ATP-CDP-INOSINA-ADENINA) de los cuales el ATP-CDP-INOSINA-ADENINA demostró mejor capacidad conservadora de la muestra, probada posteriormente a 2 concentraciones de las cuales la concentración: Adenina 10 mg/L, Inosina 0,32pM/mL, ATP 20 mg/dL y CDP 6 mL fue la más adecuada, proporcionándole a la muestra un período de viabilidad de 20 días de estudio. Se puede concluir que la muestra de sangre control preparada con el aditivo ATP-CDP-INOSINA-ADENINA presenta condiciones físico-químicas que favorecen la viabilidad de los elementos formes de la muestra.

Palabras Claves: Control de Calidad, Hematología, Muestra Control.

ABSTRACT

PREPARATION OF A BLOOD SAMPLE FOR QUALITY CONTROL PURPOSES IN THE HEMATOLOGIC LABORATORY

A lack of appropriate control samples in the area of hematology and their high cost have caused clinical labs not to apply quality control measures to hematological determinations. With the purpose of improving the quality of their performance, clinical labs must implement internal quality control programs. Consequently, the purpose of this study was to produce a blood sample for submission to quality control measures in the hematology lab

and determine the preserving ability of additives and their adequate concentration. The control blood sample was prepared by adding different additives at varying concentrations to a sample of human fresh red blood, free from leukocytes which were eliminated by centrifuge and substituted by aviarían red blood cells previously fixed The determination of the hematologic parameters under study was done with an automated device (CELL-DYN 1400) and by manual methods. The assessment was done in various clinical labs on the basis of statistical measurements and a Levey and Jennings chart. Results were as follows: Four additives were tested (ATP, INOSINA, CDP-ATP, ATP – CDP – INOSINA - ADENINA). Of these, ATP – CDP – INISINA - ADENINA showed a higher preserving ability of the sample, which was later tested at two concentrations; Adenin 10mg/L, Inosina 0, 32 pM/mL, ATP 20 mg/dL and CDP 6 mL was the most appropriate since it gave the sample a viability period of 20 days of study. It can be concluded that the control blood sample prepared with the ATP-CDP-INDSINA-ADENINA provides physical and chemical conditions that improve the viability of sample forming elements.

Key words: Quality Control, Hematology, Sample Control

(1), (2), (3), (4), (5); Laboratorio de Fisiología de la Escuela de Bioanálisis. U C., Laboratorio de Referencia González-Martínez. Financiado: CDCH-UC, Laboratorio de Referencia González-Martínez. Valencia- Venezuela. Apartado postal 3649 Código 2001-Valencia.- teleffax: 041- 254818.

E-mail: labrefgm@telcel.net.ve

Fecha Recibido: Junio 2000 - Fecha de Aprobado: Julio 2000

INTRODUCCIÓN

El análisis de los fluidos del cuerpo con propósitos de diagnóstico y terapia ha llegado a ser una parte importante de la práctica médica. Sin tales conocimientos sería imposible para los médicos llegar a la determinación exacta de una enfermedad y al tratamiento adecuado de la misma (4). Por tal motivo, los laboratorios clínicos deben producir resultados confiables, reproducibles y coherentes tanto al repetir un análisis a una misma muestra en días distintos, como al comparar los resultados con los de diferentes laboratorios (3).

En toda determinación de laboratorio hay un grado de incertidumbre, por ello no es posible obtener siempre el valor exacto en todas ellas; sin embargo éste grado de incertidumbre se puede reducir considerablemente con la aplicación de un buen Programa de Control de Calidad (1).

En Venezuela existen muchos laboratorios que no cuentan con sistemas apropiados de evaluación y Programas de Control de Calidad (7). El Control de Calidad debe garantizar la reproducibilidad de los resultados y asegurar que son lo suficientemente confiables como para ser divulgados (9).

El procedimiento del programa de Control de calidad, está basado en el uso de materiales controles y análisis estadísticos (11).

Lewis diseñó un programa de Control de Calidad el cual está dividido en períodos, cada período tiene una duración de 6 semanas y cada 6 semanas se envía a los laboratorios un nuevo número de lotes de sangre normal y anormal, los resultados obtenidos durante la primera semana del período se anotan en una ficha control, debiéndose enviar dentro de los 15 días desde la recepción de la muestra. Este programa es especialmente importante en el campo de la hematología, ya que contribuye a facilitar el diagnóstico preciso de estados patológicos, sin embargo el empleo de éste programa presenta dificultades para preparar patrones de referencia, debido a la relativa inestabilidad de las células sanguíneas (8).

Ciertos laboratorios han elaborado un gran número de controles, los cuales se han probado como material de referencia en control de calidad en el área de hematología, incluyendo células sanguíneas y materiales artificiales, no habiendo cumplido ninguna de ellas con las condiciones exigidas (5). En relación con esto Lewis en 1975 (8) señala que la sangre tiene muchas ventajas sobre los materiales artificiales, solo cuando es tratada utilizando como anticoagulante EDTA y mantenida a 4°C, pero tiene la desventaja de la desnaturalización al cabo de 72 horas; de igual manera el mismo autor señala las características que debe poseer una muestra de sangre, ya sea artificial o natural, para ser utilizada como control intralaboratorio; estas son: Ser estable, de uso directo, facilidad de suspenderse, no debe agregarse ni aglutinarse, ser constante y similar a la sangre.

Tomando en cuenta que los laboratorios no emplean programas de control de calidad debido al alto costo, esta investigación esta orientada a dar respuesta a la siguiente interrogante: ¿Qué aditivos podrían ser utilizados y qué concentración deben tener los mismos para poder preservar y mantener los componentes de la sangre dentro de los valores normales? Para responder esta pregunta nos planteamos el siguiente objetivo para la realización de éste trabajo: Elaborar una muestra de control hematológico utilizando aditivos a concentraciones apropiadas para preservar y mantener los componentes de la sangre dentro de los valores normales.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se dividió en seis fases:

FASE I. Estudio y Selección de Donantes.

Los donantes, hombres adultos, fueron seleccionados al azar y evaluados por medio de exámenes médicos y de laboratorio, siendo seleccionados 7 donantes, quienes resultaron exentos de alteraciones hematológicas e infecciosas.

FASE II. Extracción de la Muestra (Sangre).

Se realizó la extracción de 250 ml, de sangre, para ello se usaron bolsas, hechas de Cloruro de Polivinilo con el anticoagulante CDP-Adenina (Curato-fosfato-Dextrosa-Adenina).

FASE III. Preparación de la Muestra Control.

PASO I. Preparación de Hematíes Humanos.

La sangre recolectada fue vertida directamente de la bolsa a un matraz de fondo redondo, se mezcló 20 minutos. Se eliminaron los leucocitos de la sangre por centrifugación a 3500 rpm por 10 minutos. Se realizó dos veces la centrifugación.

Preparación de Celulas Seudoblancas.

Se prepararon las célulasseudoblancas mediante la recolección de 10 mL de sangre de pollo a la cual se le agregó anticoagulante EDTA y se procedió de la siguiente manera:

- 1) Se centrifugó la sangre y se separó el plasma.
- 2) Se añadió a los eritrocitos de pollo, en amortiguador de fosfato mono sódico-disódico 0,15 M pH de 7,4 en una cantidad equivalente a tres veces el volumen de sangre. Se mezcló y se transfirió a un tubo de centrifuga; se centrifugó, se descartó el sobrenadante y la capa blanca.
- 3) Se repitió el lavado y la centrifugación dos veces.
- 4) Se añadió a las células lavadas diez veces un volumen de glutaraldehído al 0,25% se mezcló rigurosamente para asegurar una suspensión completa y se agitó suavemente en un mezclador mecánico durante una hora. Para comprobar si la fijación fue completa, se añadió 3 mL de agua destilada, se mezcló y se procedió a centrifugar, la presencia de hemólisis indica falta de fijación.
- 5) Cuando se completó la fijación, se centrifugó la suspensión y se descartó el sobrenadante.
- 6) Se resuspendió las células fijadas, lavadas a una concentración de aproximadamente 30% en una solución de 9 g/L de NaCl. Se mezcló bien y se agitó vigorosamente.
- 7) Se realizó un recuento para determinar la concentración adecuada, se añadió azida de sodio al 0,1 % y se conservó a 4°C.
- 8) Antes de usarse se resuspendió mediante agitación vigorosa, hasta que desaparecieron los grumos del fondo del recipiente, después se mezcló durante un mínimo de 20 minutos en un mezclador.

Se agregaron célulasseudoblancas en una cantidad correspondiente a la concentración final deseada. Luego se añadió antibióticos en una proporción de 50 mg/Ampicilina y de 50 mg/ml Gentamicina. Se agitó continuamente por 15 minutos.

Finalmente se añadió 1 mL de la muestra con un preservativo determinado (ATP, Inosina, CDPATP-Inosina-Adenina, ATP-CDP) a cada lote de 30 recipientes de vidrio de color ámbar y estériles, se tapó, selló y conservó a 4°C.

A cada una de las muestras contenidas en los recipientes estériles, conservadas a 4°C se les realizó un ensayo con cada uno de los preservativos establecidos.

Cada uno de los lotes con las muestras preparadas fue analizado bajo los parámetros hematológicos y métodos automatizados, utilizando para esto el contador automático Celldyn 1400, para la determinación de hemoglobina, hematocrito, conteo de glóbulos rojos y blancos.

PASO II: A partir de los resultados obtenidos en el paso I, se procedió a preparar dos lotes (30 recipientes cada uno) con el mejor preservativo a dos concentraciones diferentes

respectivamente: Adenina: 20 mg/L, Inosina: 0.064pM/mL, ATP:50 mg/dL, CDP: 6 mL (Fenwal) para la concentración 1 (C 1); Adenina: 10 mg/L, Inosina: 0,032 ~tM/mL, ATP: 20 mg/dL, CDP: 6 mL para la concentración 2 (C2). Para esto se procedió como en el paso 1.

Cada uno de los lotes con las muestras prepa- 3_ radas fue analizado bajo los parámetros hematológicos y método automatizado, mencionados anteriormente.

PASO III: A partir de los resultados obtenidos en el paso II, se procedió a preparar la muestra control en sus niveles normal y anormal con el mejor aditivo (ATP-CDP-INOSINA-ADENINA). Finalmente se añadió 1 ml de muestra preparada a cada lote (30 recipientes por cada lote) de recipientes de vidrio de color ambar y estériles, se tapó, selló y conservó a 4°C; hasta su análisis.

1. Métodos manuales:

- Determinación de hemoglobina por el método de Cianometahemoglobina.
- Determinación de hematocrito por el método del Microhematocrito.

2. Método automatizado:

Se utilizó el contador automático Celldyn 1400, para la determinación de todos los parámetros hematológicos, anteriormente mencionados .

FASE IV. Evaluación de la Muestra de Control.

Las muestras control, fueron evaluadas en diferentes laboratorios clínicos (evaluación externa) y en el Laboratorio Clínico González Martínez (evaluación interna), bajo los parámetros hematológicos y métodos de diseño aplicados en su elaboración, con el fin de saber si está o no bien preparada y preservada.

FASE V. Análisis Estadístico.

A cada una de las fichas de tabulación se les calculó los parámetros estadísticos, señalados anteriormente, de la siguiente manera:

1. Se calculó la media (x) de todos los valores obtenidos en los 35 días de análisis (28 determinaciones), por cada parámetro hematológico determinado (hemoglobina, hematocrito, conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos).
2. Se calculó la desviación estándar (DE), de cada parámetro hematológico determinado.
3. Se calculó el coeficiente de variación de cada parámetro hematológico determinado.
4. Para las muestras Normales y Anormales estas determinaciones estadísticas fueron trazadas en la gráfica de Levey-Jennings, construida en base a las DE y X de los valores obtenidos, en el eje de las "y", y las determinaciones hematológicas realizadas en los 40 días de ensayo (solamente se analizaron las muestras desde el día Lunes a Viernes), ubicadas en el eje de las "x". Esta gráfica se construyó en el día 10 de análisis, con los

resultados obtenidos de los diferentes parámetros hematológicos desde el primer día hasta el décimo día.

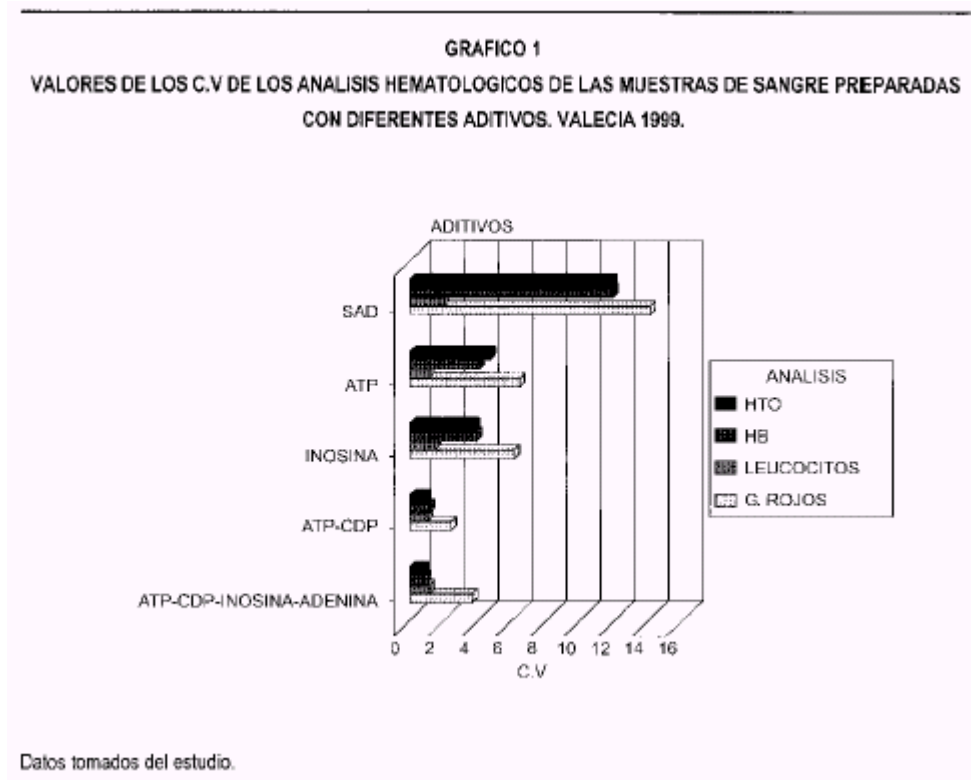
Se elaboró una gráfica por cada parámetro hematológico, ya mencionados, para la muestra normal y anormal (14).

FASE VI. Evaluación de los Cálculos Estadísticos.

Se estudió el comportamiento de la muestra control normal y anormal en el transcurso de los 26 días de análisis posteriores, por medio de la gráfica de Levey-Jennings, en la cual se estableció el tiempo máximo de viabilidad o estabilidad de la muestra a partir de los diferentes parámetros hematológicos.

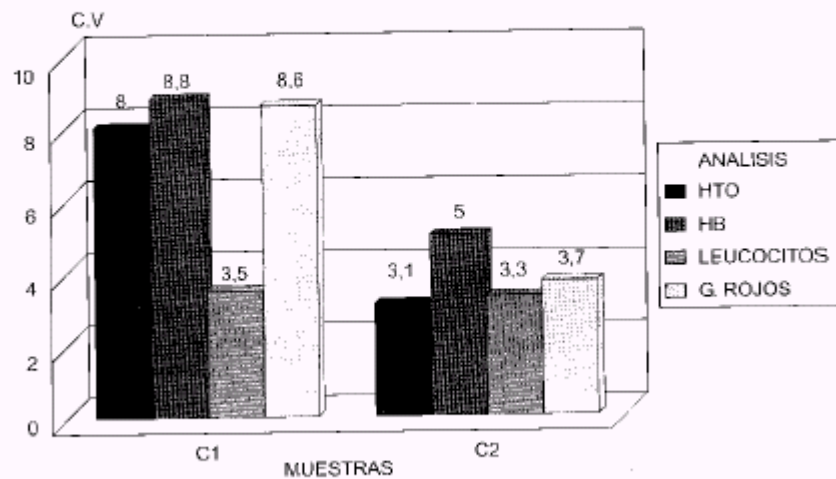
RESULTADOS

En el gráfico 1, se presentan los CV de hematocrito, hemoglobina, conteje de leucocitos y conteje de hematíes de las muestras preparadas, donde los valores altos de la desviación estándar y del coeficiente de variación correspondió a la muestra sin aditivos; obteniendo el valor más bajo la muestra con aditivo ATP-CDP-INOSINAADENINA. y con aditivo ATP-CDP.



En el gráfico 2, se presentan los valores del CV del hematocrito, hemoglobina, conteje de leucocitos y conteje de hematíes, donde se observan valores relativamente bajos del CV en la muestra C2 con respecto a la muestra C1.

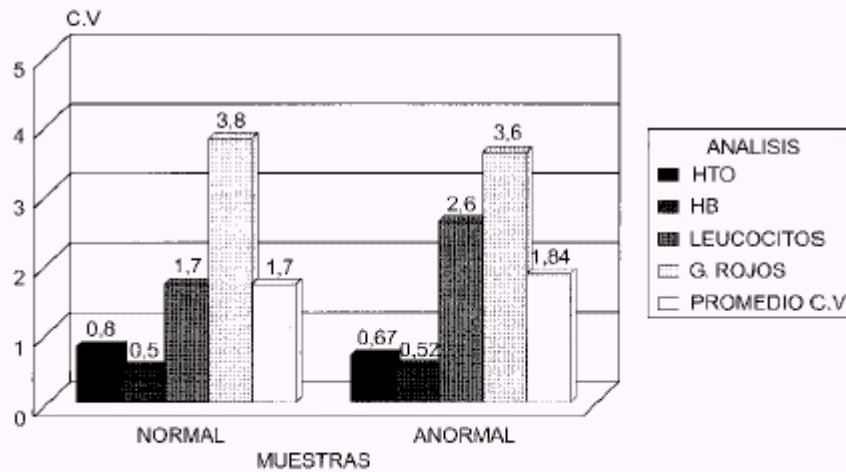
GRAFICO 2
VALORES DE LOS C.V OBTENIDOS EN LOS ANALISIS HEMATOLOGICOS DE LAS MUESTRAS DE SANGRE
PREPARADAS CON DOS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ADITIVOS, VALENCIA 1999.



Datos tomados del estudio.

En el gráfico 3, se presentan los C.V de las diferentes variables de hematología analizadas de la muestras NORMAL Y ANORMAL se nota que el menor C.V fue para la determinación de hemoglobina y el mayor para el conteo de leucocitos.

GRAFICO 3
VALORES DE LOS C.V DE LOS ANALISIS HEMATOLOGICOS DE LAS MUESTRAS DE SANGRE NORMAL Y ANORMAL PREPARADAS CON ADITIVOS. VALENCIA 1999.



Datos tomados del estudio.

En el cuadro 1, se presenta los CV de las diferentes variables hematológicas analizadas de la muestra Normal, donde se observa que el menor CV fue para la Hb y el mayor para el contejo de hematíes.

CUADRO 1
VALORES PROMEDIOS, DE Y C.V. DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LAS VARIABLES HEMATOLOGICAS DE LA MUESTRA DE SANGRE NORMAL. VALENCIA 1.999

VARIABLE (Unidades)	X	DE	C.V.
Hematocrito (%)	38,1	0,25	0,8
Hemoglobina (g/dl)	11,5	0,06	0,52
Leucocitos (mm ³)	11.207	191,0	1,7
Hematíes (mm ³)	3.786.500	143.887	3,8
Promedio			1,7

Datos tomados del estudio.

En el cuadro 2 se presentan los valores para la para el muestra de sangre Anormal, siendo el CV mas alto contejo de hematíes y el menor el de Hb.

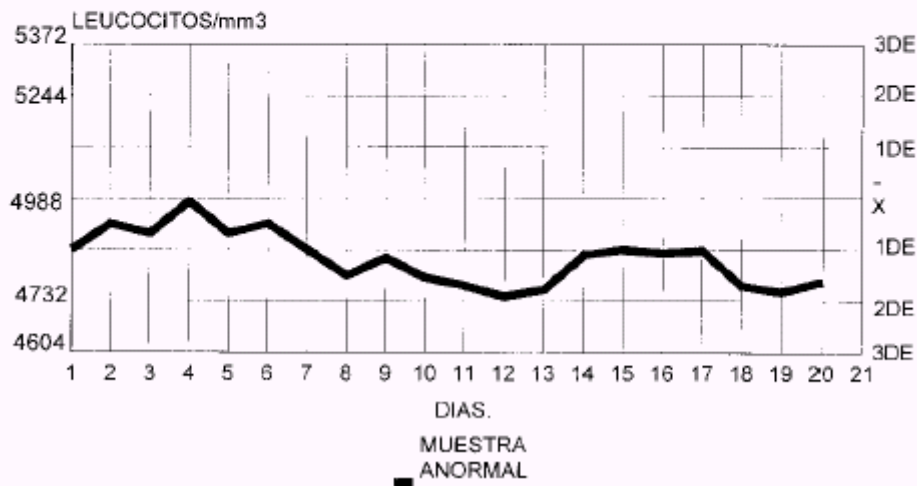
CUADRO 2
VALORES PROMEDIOS, DE Y C.V. DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LAS VARIABLES HEMATOLOGICAS
DE LA MUESTRA DE SANGRE ANORMAL. VALENCIA 1.999

VARIABLE (Unidades)	X	DE	C.V
Hematocrito (%)	31,3	0,21	0,67
Hemoglobina (g/dl)	9,9	0,05	0,52
Leucocitos (mm ³)	4. 988	128,0	2,6
Hematies (mm ³)	3.268.000	117.648	3,6
Promedio			1,8

Datos tomados del estudio.

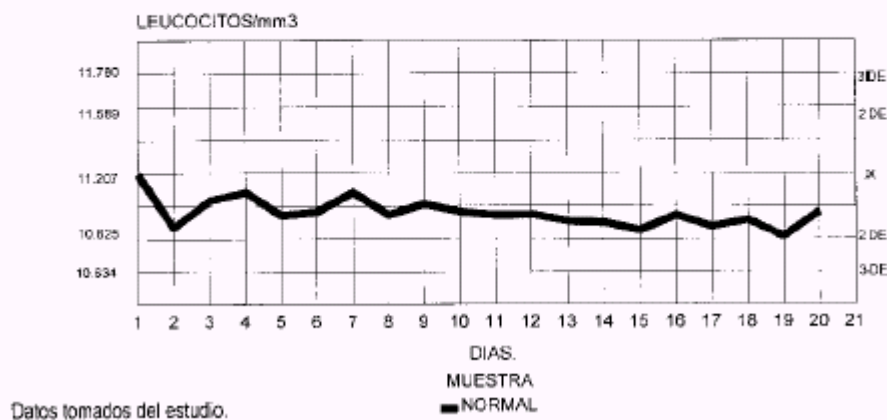
En el gráfico 4 de Levey y Jennings para contaje de leucocitos de la muestra anormal se observa que en los primeros 6 días los valores oscilan dentro del rango de -1 DE , sufriendo un descenso en los días 7 ubicándose en el rango de -2 DE, limite inferior de alerta, para luego ascender el día 13 manteniéndose constante sobre el valor de -1 DE volviendo hacer un descenso el día 18 tornándose gradualmente constante hasta el día 20.

GRAFICO 4
GRAFICA DE LEVEY Y JENNINGS PARA EL CONTAJE DE LEUCOCITOS DE LA MUESTRA ANORMAL.
VALENCIA 1999.



En el gráfico 5 se presenta la gráfica de Levey y Jennings para el conteo de leucocitos de la muestra Normal, donde se observa valores bien distribuidos en los primeros 8 días y a partir del día noveno al decimoquinto hay desplazamiento de la Media hacia -1DE.

GRAFICO 5
GRAFICA DE LEVEY Y JENNINGS PARA EL CONTAJE DE LEUCOCITOS DE LA MUESTRA NORMAL.
VALENCIA 1999.



DISCUSIÓN

El Control de Calidad en el área de Hematología representa un sistema apropiado de evaluación del trabajo en el laboratorio, basado en el uso de materiales controles. Por esto nuestro objetivo principal fue preparar y evaluar un material de control (sangre) para hematología, de fácil preparación y de bajo costo para métodos automatizados y manuales (Hb y Hto).

En la preparación de la muestra control se realizó ensayos con 4 aditivos diferentes, obteniéndose una mejor preservación de la muestra con la adición de ATP, Inosina, CDP y Adenina, en un período de 34 días. Es muy conocida la acción de la Adenina más Inosina en la resíntesis del ATP, restaurando la viabilidad en los glóbulos rojos depletados por el almacenamiento. Agregando las bondades de buffer y fuente de energía del CDP (12).

Es necesario mencionar que no se observó hemólisis ni al comienzo ni al final del estudio en los viales preparados. Asimismo los hematíes de estas muestras controles han sido marcadamente resistentes a la fragilidad osmótica, para esto se comprobó utilizando el método de la fragilidad osmótica del consumo de Azul de Metileno. (13).

En este ensayo, los resultados presentaron semejanzas con los resultados obtenidos por Lewis (1975); quien señaló que la sangre es más estable si se almacena en una solución que contenga preservativo y anticoagulante: Citrato-Fosfato-Dextrosa (CPD) Zucker y Brosius (13), recomendaron la adición de Adenina a la sangre preservada con CDP siendo estable por 30 días a 4°C. Weisbach (12) en su Revisión informa que CPD más Adenina mantiene el balance bioquímico necesario para preservar las células rojas por lo menos 35 días siendo inclusive apta para transfusión.

Adicionalmente, la concentración del aditivo determinada experimentalmente en este estudio permite preservar la muestra por un período de tiempo de 40 días, manteniendo las condiciones físico-químicas de los elementos formes semejantes a las de la sangre

circulante. Además los viales se almacenaron y se transportaron con el debido cuidado al laboratorio de procesamiento analítico sin ningún efecto sobre las variables (2).

Por otra parte, la adición de las células rojas aviarias fijadas en la muestra control exenta de leucocitos, presentó valores constantes en el tiempo, siendo la función principal de estas células rojas aviarias ser sustitutos de los leucocitos humanos proporcionándole a la muestra control mayor estabilidad.

Igualmente Lewis (8), lo señaló como un método adecuado como sustituto de leucocitos humanos, debido a que las células rojas aviarias poseen núcleo, por lo tanto son reconocidos por impedancia como leucocitos humanos, aunado a que las células rojas aviarias presentan una vida media mas prolongada con respecto a la de los leucocitos humanos. Sin embargo para que tenga validez la sustitución de G.R. aviarios hay que retirar totalmente los leucocitos humanos por filtración de esta manera se mejora la calidad de la muestra y los hematíes almacenados pueden permanecer viables hasta 42 días (6). Como se observa en los gráficos 4 y 5 hay un desplazamiento de del promedio a lo largo del estudio, debido posiblemente a la presencia de leucocitos humanos que van degenerando y disminuyendo su número.

Al examinar los coeficientes de variación (CV) de los parámetros hematológicos de las muestras normal y anormal observamos que estos valores (Tablas 1 y 2) son similares o menores a los encontrados por otros autores (6) para leucocitos 2,7 %; para Hematíes 0,7 %; hemoglobina 0,6 y hematocrito 0,7 %. Springer y Cols.(10), evaluando un preservativo de sangre humana llamado cyto-chex encontraron los siguientes valores: leucocitos 6,7 %, hematíes 0,76 %, hemoglobina 0,79 % y hematocrito 0,75 %.

Al analizar los resultados individuales de las gráficas de Levey y Jenning (datos no mostrados) se pudo observar variaciones en el tiempo de los valores para cada uno de los parámetros en estudio, dado a su constante ubicación de los rangos de ± 1 DE a ± 2 DE y una tendencia ascendente y/ o descendente en un período de 20 días; demostrándose de esta manera una relativa estabilidad de la muestra control.

En las determinaciones de los parámetros hematológicos en la muestra de sangre control preparada se pudo demostrar que los resultados obtenidos por métodos automatizados son más confiables que aquellos obtenidos por métodos manuales (6) (10), cuyos CV fueron mayores que los obtenidos por métodos automatizados (CV para Hb 1,3 y Hto 3,7).

En este estudio concluimos que la muestra de sangre control preparada, es un material estable, utilizable para el control de calidad interno, con una reproducibilidad aceptable al ser analizado por métodos automatizados y manuales.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) BEERS, Y. Introduction to the theory of error, Cambridge Mass. Addison - Wesley Publishing co; 70 - 76.1980.
- 2) BELLAMY, G. and Hinchliffe, R. Effect of storage on blood count variables in small samples. Med. Lab. Sci. 47 (3): 230-233; 1990.

- 3) CASTILLO de Sanchez, F. (1995). Mejorías de la calidad: guía para los Laboratorios clínicos de América Latina. México: Editorial Panamericana
- 4) EL LERS, E. Quality Assurance in health care. McGraw Hill Book Co. New York; 1 - 2.1975.
- 5) FINK, N; Fernández, A and Mazziotta, D. Evaluación externa de la Calidad analítica en hematología; una necesidad en América Latina. Pan. Am. J. Public health 2 (3).1997.
- 6) FINK, N; Fernández, A; Crispini, I. and Mazziotta, D. Evaluation and additional recommendations for preparing a whole blood control material. Rev. Saude Publica. 32 (2): 107 - 111.1998.
- 7) GONZÁLEZ, J. y Arocha, K. Evaluación de parámetros bioquímicos para control de Calidad externo a nivel nacional. Trabajo de ascenso. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Ciencias de la Salud Universidad de Carabobo. 1986.
- 8) LEWIS, S. Quality control in haematology: Proc.Roy.Soc.Med. october; 68: 615-620. 1975.
- 9) RAJAMAKI, A. Limits of performance for measurement of blood haemoglobin concentration, number concentration of erythrocyte volume fraction in interlaboratory trials: results of the Finnish proficiency testing programme in haematology. Scand J. Clin. Lab. Invest; 40. 563 - 566.1980.
- 10) SPRINGER, W.; Prohaska, W.; Hope, A . Evaluation of a new reagent for preserving fresh blood samples and its potential usefulness for internal quality controls of multichannel hematology analyzers. Am. J. Clin. Pathol. 111 (3):387 - 396.1999.
- 11) VAZQUEZ de Olazabal. (1991). La química clínica en los laboratorios de Salud. Valencia, España.
- 12) WEISBACH, V. In vitro characteristics of red blood cell concentrates prepared from under- and over collected units of whole blood and from a paediatric blood bag system. Transfus.Med.10(1):23-30.2000.
- 13) ZENTSOVA, O.A. and sveshchinskii, M.L. Characteristics of the organization of clinical laboratory using modern hematological analyzers. Klin.Lab.Diagn. 5: 38-41.1998.
- 14) ZUCKER, S and Brousius, E. Fixed blood cells. Am. J. Clin. 53:474 -480.1970.