

Recomendações da
**Sociedade Brasileira
de Patologia Clínica
Medicina Laboratorial** para
**COLETA DE
SANGUE VENOSO**

**RECOMENDAÇÕES DA
SOCIEDADE BRASILEIRA DE
PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL
PARA COLETA DE SANGUE VENOSO**

(2ª edição)



Copyright © Editora Manole Ltda., 2009, por meio de coedição com a Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda.

Minha Editora é um selo editorial Manole.

Logotipos: Copyright © Latin American Preamalytical Scientific Committee (LASC)

Copyright © BD Vacutainer

Copyright © Sociedade Brasileira de Patologia Clínica (SBPC)/Medicina Laboratorial

Copyright © Associação Médica Brasileira (AMB)

Capa: Departamento Editorial da Editora Manole

Projeto gráfico e editoração eletrônica: JLG Editoração Gráfica

Ilustrações do miolo: Rodrigo Paiva de Moraes; Guilherme Bacellar Ferreira; New West Comunicação e Marketing

Imagens do miolo: gentilmente cedidas pelos autores

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Recomendações da Sociedade Brasileira de
Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para
coleta de sangue venoso – 2. ed. Barueri,
SP : Minha Editora, 2010

Vários autores.

ISBN 978-85-98416-94-6

1. Diagnóstico de laboratório 2. Laboratórios
médicos 3. Patologia clínica 4. Sangue – Coleta e
preservação

09-07523

CDD-616.07
NLM-QZ 004

Índices para catálogo sistemático:
1. Coleta de sangue venoso : Patologia clínica :
Medicina laboratorial 616.07

Todos os direitos reservados.

Nenhuma parte deste livro poderá ser reproduzida,
por qualquer processo, sem a permissão expressa dos editores.
É proibida a reprodução por xerox.

Edição – 2010

Editora Manole Ltda.

Avenida Ceci, 672 – Tamboré

06460-120 – Barueri – SP – Brasil

Tel.: (11) 4196-6000 – Fax: (11) 4196-6021

www.manole.com.br

info@manole.com.br

Impresso no Brasil

Printed in Brazil

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/ MEDICINA LABORATORIAL COMISSÃO DE COLETA DE SANGUE VENOSO

PRESIDENTE:

Dr. Nairo Massakazu Sumita

VICE-PRESIDENTE:

Dr. Ismar Venâncio Barbosa

Autores da 2ª edição:

Dr. Adagmar Andriolo

Médico Patologista Clínico. Professor Adjunto Livre-docente do Departamento de Medicina da UNIFESP – Escola Paulista de Medicina.

Dr. Alvaro Rodrigues Martins

Médico Patologista Clínico. Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – Biênio 2008/2009.

Dr. Carlos Alberto Franco Ballarati

Médico Patologista Clínico. Doutor em Patologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). MBA em Gestão de Saúde pelo IBMEC São Paulo – Hospital Israelita Albert Einstein. Diretor Operacional do Total Laboratórios. Diretor Científico da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – Biênio 2008/2009.

Dr. Ismar Venâncio Barbosa

Médico Patologista Clínico. Vice-presidente da Sociedade de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – Biênio 2008/2009.

Dra. Maria Elizabete Mendes

Médica Patologista Clínica. Doutora em Patologia pela FMUSP. Chefe da Seção Técnica de Bioquímica de Sangue da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) (LIM-03 da Patologia Clínica).

Dr. Murilo Rezende Melo

Médico Patologista Clínico. Professor Adjunto do Departamento de Ciências Fisiológicas, Laboratório de Medicina Molecular, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Diretor Médico-científico do Total Laboratórios. Diretor da América Latina da World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine (WAS-PaLM). Diretor de Comunicações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – Biênio 2008/2009.

Dr. Nairo Massakazu Sumita

Médico Patologista Clínico. Professor-assistente Doutor da Disciplina de Patologia Clínica da FMUSP. Diretor do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do HC-FMUSP (LIM-03 da Patologia Clínica). Assessor Médico em Bioquímica Clínica do Fleury Medicina e Saúde. Vice-diretor Científico da Sociedade Brasileira de

Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) – Biênio 2008/2009. Consultor Científico do Latin American Preanalytical Scientific Committee (LASC).

Dra. Patricia Romano

Biomédica. Pós-graduada em Saúde Pública. Gerente de Marketing Clínico da BD Diagnostics – Preanalytical Systems. Consultora Científica do Latin American Preanalytical Scientific Committee (LASC).

Dra. Priscila de Arruda Trindade

Farmacêutica-bioquímica. Doutora em Ciências – Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias pela FMUSP. Especialista em Aplicações da BD Diagnostics – Diagnostic Systems.

Autores da 1ª edição (outubro de 2005):

Adagmar Andriolo

Áurea Lacerda Cançado

Ismar Venâncio Barbosa

Luisane Maria Falci Vieira

Maria Elizabete Mendes

Nairo Massakazu Sumita

Patricia Romano

Rita de Cássia Castro

Ulysses Moraes Oliveira

SUMÁRIO

PREFÁCIO	IX
INTRODUÇÃO	XI
I. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para Coleta de Sangue Venoso	1
1. Causas Pré-analíticas de Variações dos Resultados de Exames Laboratoriais	1
1.1 Variação Cronobiológica	2
1.2 Gênero	3
1.3 Idade	3
1.4 Posição	3
1.5 Atividade Física	4
1.6 Jejum	4
1.7 Dieta	4
1.8 Uso de Fármacos e Drogas de Abuso	5
1.9 Outras Causas de Variação	5
2. Instalação e Infraestrutura Física do Local de Coleta	6
2.1 Recepção e Sala de Espera	6
2.2 Área Física da Sala de Coleta	6
2.3 Infraestrutura	6
2.4 Equipamentos e Acessórios	7
2.5 Conservação e Limpeza das Instalações	7
2.6 Armazenamento dos Resíduos Sólidos de Saúde	7
3. Fase Pré-analítica para Exames de Sangue	8
3.1 Procedimentos Básicos para Minimizar Ocorrências de Erro	10
3.1.1 Para pacientes adultos e conscientes	10
3.1.2 Para pacientes internados	10
3.1.3 Para pacientes muito jovens ou com algum tipo de dificuldade de comunicação	10
3.2 Definição de Estabilidade da Amostra	13
3.3 Transporte de Amostra como Fator de Interferência Pré-analítica	15
4. Procedimentos de Coleta de Sangue Venoso	16
4.1 Generalidades sobre a Venopunção	16
4.2 Locais de Escolha para Venopunção	18
4.3 Uso Adequado de Torniquete	20
4.4 Procedimentos para Antissepsia e Higienização em Coleta de Sangue Venoso	23
4.4.1 Higienização das mãos	24
4.4.2 Colocando as luvas	24
4.4.3 Antissepsia do local da punção	25
4.5 Critérios para Escolha da Coleta de Sangue Venoso a Vácuo ou por Seringa e Agulha	26
4.5.1 Considerações sobre coleta de sangue venoso a vácuo	27
4.5.2 Coleta de sangue a vácuo	27

4.5.3	Considerações sobre coleta de sangue venoso com seringa e agulha	28
4.5.4	Dificuldade para a coleta da amostra de sangue	29
4.6	Considerações Importantes sobre Hemólise	30
4.6.1	Boas práticas de pré-coleta para prevenção de hemólise	31
4.6.2	Boas práticas de pós-coleta para prevenção de hemólise	31
4.7	Recomendações para os Tempos de Retração do Coágulo	32
4.8	Centrifugação dos Tubos de Coleta	33
4.9	Recomendações da Sequência dos Tubos a Vácuo na Coleta de Sangue Venoso de acordo com o CLSI	37
4.9.1	Sequência de coleta para tubos plásticos de coleta de sangue	40
4.9.2	Sequência de coleta para tubos de vidro de coleta de sangue	40
4.9.3	Homogeneização para tubos de coleta de sangue	40
4.10	Procedimentos de Coleta de Sangue a Vácuo	40
4.11	Procedimentos de Coleta de Sangue com Seringa e Agulha	46
4.12	Cuidados para uma Punção Bem-sucedida	51
4.13	Coletas em Condições Particulares	54
4.13.1	Coleta de sangue via cateter de infusão	54
4.13.2	Coleta de sangue via cateter de infusão com heparina	57
4.13.3	Fístula arteriovenosa	58
4.13.4	Fluidos intravenosos	58
4.14	Hemocultura	59
4.15	Coleta de Sangue para Provas Funcionais	73
4.16	Coleta de Sangue em Pediatria e Geriatria	75
4.17	Coleta de Sangue em Pacientes com Queimaduras	75
4.18	Gasometria	75
4.19	Testes de Coagulação	78
4.20	Coleta para Dosagem de Cálcio Ionizado	81
4.21	Coleta e Transporte de Amostras de Sangue para Testes Moleculares	85
5.	Garantia da Qualidade	86
5.1	Qualificação dos Fornecedores e Materiais	87
5.2	Especificação dos Materiais para Coleta de Sangue a Vácuo	88
5.2.1	Agulhas de coleta múltipla de sangue a vácuo	88
5.2.2	Adaptadores para coleta de sangue a vácuo	88
5.2.3	Escalpes para coleta múltipla de sangue a vácuo	89
5.2.4	Tubos para coleta de sangue a vácuo	89
5.3	Comentários sobre a ISO 6710.1 – <i>Single-use Containers for Human Venous Blood Specimen Collection</i>	90
5.3.1	Informações que o tubo a vácuo deve apresentar no rótulo ou no tubo	92
5.3.2	Concentração e volume dos anticoagulantes	92
5.4	Requisição de Exames	94
5.5	Identificação e Rastreabilidade	94
5.6	Documentação	95
5.7	Transporte e Preservação das Amostras	96
5.8	Capacitação e Treinamento do Pessoal	96
6.	Aspectos de Segurança na Fase de Coleta	96
6.1	Segurança do Paciente	96
6.2	Riscos e Complicações da Coleta	97

6.3	Formação de Hematoma	97
6.4	Punção Acidental de uma Artéria	98
6.5	Anemia Iatrogênica	98
6.6	Infecção	98
6.7	Lesão Nervosa	99
6.8	Dor	99
6.9	Segurança do Flebotomista	99
6.10	Boas Práticas Individuais	100
6.11	Equipamentos de Proteção Individual (EPI)	100
6.12	Cuidados na Sala de Coleta	101
6.13	Descarte Seguro de Resíduos	101
6.13.1	Classificação dos resíduos de saúde	102
6.13.2	Identificação dos resíduos	103
6.13.3	Manejo dos RSS	103
6.13.4	Transporte interno de RSS	105
6.13.5	Armazenamento dos resíduos sólidos de saúde	105
Referências Normativas Brasileiras Consultadas		106
Referências Normativas do Clinical and Laboratory Standards Institute		
CLSI/NCCLS		108
Referências Bibliográficas Consultadas e Recomendadas		109

PREFÁCIO

Em 2005, a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) reuniu um grupo de especialistas da área laboratorial, para participar de um ousado projeto de revisão da literatura acerca da coleta de sangue venoso. Ao final, o esforço e a dedicação dos colaboradores resultaram no documento denominado “Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para Coleta de Sangue Venoso”.

Para satisfação da SBPC/ML, a publicação tornou-se referência na área da Medicina Laboratorial, sem que outras iniciativas similares surgissem.

Após quatro anos, percebeu-se a necessidade de uma revisão do documento, visando a incorporar novos conceitos e temas.

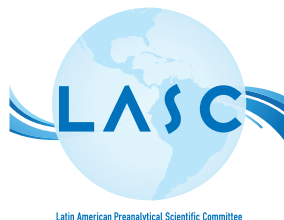
Nessa edição, o grupo de trabalho recebeu o apoio do Latin American Preanalytical Scientific Committee (LASC), composto por renomados especialistas internacionais em assuntos relacionados às questões referentes à fase pré-analítica do processo laboratorial.

A SBPC/ML orgulha-se de exercer o papel de facilitadora nesse processo, fato que resultou na publicação desta segunda edição revisada e ampliada.

A expectativa da SBPC/ML é que este documento de recomendações produza resultados ainda melhores na prática diária da atividade laboratorial, fomentando, continuamente, a melhoria da qualidade dos serviços laboratoriais.

Cabe-me, agora, renovar os votos de uma boa leitura.

Dr. Alvaro Rodrigues Martins
Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia
Clínica/Medicina Laboratorial – Biênio – 2008-2009



INTRODUÇÃO

Quando a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) propôs a revisão do documento publicado em 2005, baseou-se em algumas premissas que norteiam, de maneira permanente, a sua atuação:

- crença da renovação contínua do conhecimento;
- constatação de que a origem da maioria dos erros nos resultados dos exames laboratoriais está na fase pré-analítica;
- inequívoca capacidade do laboratório clínico em gerar evidências consistentes para a tomada de decisões médicas.

A SBPC/ML, ciente do seu papel de difusora do conhecimento e da sua missão de congregar os profissionais de laboratório, bem como de aproximá-los das boas práticas no laboratório clínico, apresenta a versão atualizada das “Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para Coleta de Sangue Venoso”, incluindo alterações não apenas de apresentação e formato mas também de conteúdo.

As melhorias incorporadas visam a facilitar a leitura e a compreensão. As imagens, em formato digitalizado, são um dos exemplos dessa evolução. As modificações no conteúdo tiveram, como principal propósito, a atualização do conhecimento. Algumas imperfeições da versão anterior foram devidamente corrigidas, sem a perda da qualidade do conteúdo.

Os autores entendem que os leitores que consultarão este novo documento são profissionais preocupados com a atualização das informações exigidas pelo mercado de trabalho. Por essa razão, procuraram, sempre que possível, incluir, nesta obra, as principais atualizações nessa área do conhecimento médico. Preocuparam-se, também, em citar informações práticas e aplicáveis na rotina laboratorial, para servir como fonte de consulta e como instrumento para o treinamento.

Os leitores que nos leem em outros idiomas talvez encontrem eventuais divergências, particularmente em relação às diferenças culturais, situação para a qual solicitamos a necessária compreensão.

Nesta nova versão, os autores, novamente, assumem o compromisso de revisar periodicamente o documento, com foco sempre voltado à melhoria contínua da atenção à saúde.

RECOMENDAÇÕES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL PARA COLETA DE SANGUE VENOSO

1. Causas Pré-analíticas de Variações dos Resultados de Exames Laboratoriais

Uma das principais finalidades dos resultados dos exames laboratoriais é reduzir as dúvidas que a história clínica e o exame físico fazem surgir no raciocínio médico. Para que o laboratório clínico possa atender, adequadamente, a este propósito, é indispensável que todas as fases do atendimento ao paciente sejam desenvolvidas seguindo os mais elevados princípios de correção técnica, considerando a existência e a importância de diversas variáveis biológicas que influenciam, significativamente, a qualidade final do trabalho.

Fase Pré-analítica

Atualmente, tem se tornado comum a declaração de que a fase pré-analítica é responsável por cerca de 70% do total de erros ocorridos nos laboratórios clínicos que possuem um sistema de controle da qualidade bem estabelecido. Apesar de todas as dificuldades para a comprovação desta afirmativa, a implantação, cada vez mais frequente, de procedimentos automatizados e robotizados na fase analítica permite assumi-la como verdadeira. Adicionalmente, algumas características desta fase aumentam, em muito, o grau de complexidade e, por consequência, a oportunidade de ocorrência de erros e não conformidades.

A fase pré-analítica inclui a indicação do exame, redação da solicitação, transmissão de eventuais instruções de preparo do paciente, avaliação do atendimento às condições prévias, procedimentos de coleta, acondicionamento, preservação e transporte da amostra biológica até o momento em que o exame seja, efetivamente, realizado.

Dessa forma, a fase pré-analítica se desenvolve pela sequência de ações de um grande número de pessoas, com diferentes formações profissionais, focos de interesse e grau de envolvimento. Ao médico solicitante do exame e seus auxiliares diretos, interessa a obtenção, às vezes em caráter de urgência, de um resultado laboratorial; ao paciente, toca a preocupação com o possível desconforto do preparo e da coleta da amostra; ao flebotomista, cabe a preocupação

com o cumprimento dos requisitos técnicos da coleta e com os riscos biológicos potenciais; igualmente, às pessoas encarregadas do acondicionamento, preservação e transporte da amostra, restam os cuidados para com a segurança e integridade do material e delas próprias.

A correta indicação do exame dependerá, primariamente, da familiaridade do médico solicitante com os recursos laboratoriais disponíveis, bem como do seu conhecimento das condições ideais para a coleta de material. O médico solicitante – ou seus auxiliares diretos – deveria ser a primeira pessoa a instruir o paciente sobre as condições requeridas para a realização do exame, informando-o sobre a eventual necessidade de preparo, como jejum, interrupção do uso de alguma medicação, dieta específica ou prática de atividade física.

De uma forma ideal, o paciente deveria contatar o laboratório clínico, onde receberia informações adicionais e complementares, com alguns pormenores, como o melhor horário para a coleta e a necessidade da retirada de frascos próprios para a coleta domiciliar de algum material. O paciente, absolutamente, não é um agente neutro neste contexto, influenciando de forma significativa a qualidade do atendimento que lhe é prestado. Dessa forma, é preciso alguma atenção no sentido de se assegurar que ele compreendeu as instruções ministradas e que dispõe de meios para segui-las. Algumas vezes, não é tarefa fácil obter informações críticas, omitidas voluntariamente ou involuntariamente pelo paciente.

Para que os resultados de alguns exames laboratoriais tenham algum valor clínico, deve ser registrado o horário de coleta, referindo o uso de determinados medicamentos (incluindo tempo de uso e dosagem); outros exigem cuidados técnicos de procedimento, como o uso ou não do garrote, de tubos, anticoagulantes e conservantes específicos, a descrição exata do local da coleta, por exemplo, nos casos de amostras para exames microbiológicos etc.

Para a coleta de sangue para a realização de exames laboratoriais, é importante que se conheça, controle e, se possível, evite algumas variáveis que possam interferir na exatidão dos resultados. Classicamente, são referidas como condições pré-analíticas: variação cronobiológica, gênero, idade, posição, atividade física, jejum, dieta e uso de drogas para fins terapêuticos ou não. Em uma abordagem mais ampla, outras condições devem ser consideradas, como procedimentos terapêuticos ou diagnósticos, cirurgias, transfusões de sangue e infusão de soluções.

1.1 Variação Cronobiológica

Corresponde às alterações cíclicas na concentração de um determinado parâmetro em função do tempo. O ciclo de variação pode ser diário, mensal, sazonal, anual etc. Variação circadiana acontece, por exemplo, nas concentrações

do ferro e do cortisol no soro. As coletas realizadas à tarde fornecem resultados até 50% mais baixos do que os obtidos nas amostras coletadas pela manhã. As alterações hormonais típicas do ciclo menstrual também podem ser acompanhadas de variações em outras substâncias. Por exemplo, a concentração de aldosterona é cerca de 100% mais elevada na fase pré-ovulatória do que na fase folicular. Além das variações circadianas propriamente ditas, há de se considerar variações nas concentrações de algumas substâncias em razão de alterações do meio ambiente. Em dias quentes, por exemplo, a concentração sérica das proteínas é, significativamente, mais elevada em amostras colhidas à tarde quando comparadas às obtidas pela manhã, em razão da hemoconcentração.

1.2 Gênero

Além das diferenças hormonais específicas e características de cada sexo, alguns outros parâmetros sanguíneos e urinários se apresentam em concentrações significativamente distintas entre homens e mulheres em decorrência das diferenças metabólicas e da massa muscular, entre outros fatores. Em geral, os intervalos de referência para estes parâmetros são específicos para cada gênero.

1.3 Idade

Alguns parâmetros bioquímicos possuem concentração sérica dependente da idade do indivíduo. Essa dependência é resultante de diversos fatores, como maturidade funcional dos órgãos e sistemas, conteúdo hídrico e massa corporal. Em situações específicas, até os intervalos de referência devem considerar essas diferenças. É importante lembrar que as mesmas causas de variações pré-analíticas que afetam os resultados laboratoriais em indivíduos jovens interferem nos resultados dos exames realizados em indivíduos idosos, mas a intensidade da variação tende a ser maior neste grupo etário. Doenças subclínicas também são mais comuns nos idosos e precisam ser consideradas na avaliação da variabilidade dos resultados, ainda que as próprias variações biológicas e ambientais não devam ser subestimadas.

1.4 Posição

Mudança rápida na postura corporal pode causar variações na concentração de alguns componentes séricos. Quando o indivíduo se move da posição supina para a posição ereta, por exemplo, ocorre um fluxo de água e substâncias filtráveis do espaço intravascular para o intersticial. Substâncias não filtráveis, tais como as proteínas de alto peso molecular e os elementos celulares terão sua concentração relativa elevada até que o equilíbrio hídrico se restabeleça. Por essa razão, os níveis de albumina, colesterol, triglicérides, hematócrito, hemoglobina, de

drogas que se ligam às proteínas e o número de leucócitos podem ser superestimados. Esse aumento pode ser de 8 a 10% da concentração inicial.

1.5 Atividade Física

O efeito da atividade física sobre alguns componentes sanguíneos, em geral, é transitório e decorre da mobilização de água e outras substâncias entre os diferentes compartimentos corporais, das variações nas necessidades energéticas do metabolismo e na eventual modificação fisiológica que a própria atividade física condiciona. Esta é a razão pela qual prefere-se a coleta de amostras com o paciente em condições basais, mais facilmente reproduzíveis e padronizáveis. O esforço físico pode causar aumento da atividade sérica de algumas enzimas, como a creatinaquinase, a aldolase e a asparato aminotransferase, pelo aumento da liberação celular. Esse aumento pode persistir por 12 a 24 horas após a realização de um exercício. Alterações significativas no grau de atividade física, como ocorrem, por exemplo, nos primeiros dias de uma internação hospitalar ou de imobilização, causam variações importantes na concentração de alguns parâmetros sanguíneos. O uso concomitante de alguns medicamentos, como as estatinas, por exemplo, pode potencializar estas alterações.

1.6 Jejum

Habitualmente, é preconizado um período de jejum para a coleta de sangue para exames laboratoriais. Os estados pós-prandiais, em geral, se acompanham de turbidez do soro, o que pode interferir em algumas metodologias. Na população pediátrica e de idosos, o tempo de jejum deve guardar relação com os intervalos de alimentação. Devem ser evitadas coletas de sangue após períodos muito prolongados de jejum – acima de 16 horas. O período de jejum habitual para a coleta de rotina de sangue é de 8 horas, podendo ser reduzido a 4 horas, para a maioria dos exames e, em situações especiais, tratando-se de crianças de baixa idade, pode ser de 1 ou 2 horas apenas.

1.7 Dieta

A dieta a que o indivíduo está submetido, mesmo respeitado o período regulamentar de jejum, pode interferir na concentração de alguns componentes, na dependência das características orgânicas do próprio paciente. Alterações bruscas na dieta, como ocorrem, em geral, nos primeiros dias de uma internação hospitalar, exigem certo tempo para que alguns parâmetros retornem aos níveis basais.

1.8 Uso de Fármacos e Drogas de Abuso

Este é um item amplo e inclui tanto a administração de substâncias com finalidades terapêuticas como as utilizadas para fins recreacionais. Ambos podem causar variações nos resultados de exames laboratoriais, seja pelo próprio efeito fisiológico, *in vivo*, seja por interferência analítica, *in vitro*. Dentre os efeitos fisiológicos, devem ser citadas a indução e a inibição enzimáticas, a competição metabólica e a ação farmacológica. Dos efeitos analíticos são importantes a possibilidade de ligação preferencial às proteínas e eventuais reações cruzadas. Alguns exemplos são mostrados na Tabela 1.

Pela frequência, vale referir os efeitos do álcool e do fumo. Mesmo o consumo esporádico de etanol pode causar alterações significativas e quase imediatas na concentração plasmática de glicose, de ácido láctico e de triglicérides, por exemplo. O uso crônico é responsável pela elevação da atividade da gama glutamiltransferase, entre outras alterações. O tabagismo é causa de elevação na concentração de hemoglobina, nos números de leucócitos e de hemácias e no volume corpuscular médio, além de outras substâncias, como adrenalina, aldosterona, antígeno carcinoembrionário e cortisol. Por fim, causa também a redução na concentração de HDL-colesterol.

1.9 Outras Causas de Variação

Como outras causas de variações dos resultados dos exames laboratoriais, devem ser lembrados certos procedimentos diagnósticos como a administra-

Tabela 1 - Exemplos de interferências laboratoriais geradas por alguns fármacos
Efeito a nível sérico

MECANISMO	FÁRMACO	PARÂMETRO	EFEITO
Indução enzimática	Fenitoína	Gama-GT	Eleva o nível sérico
Inibição enzimática	Alopurinol	Ácido úrico	Reduz o nível sérico
	Ciclofosfamida	Colinesterase	Reduz o nível sérico
Competição	Novobiocina	Bilirrubina indireta	Eleva o nível sérico
Aumento do transportador	Anticoncepcional oral	Ceruloplasmina cobre	Eleva o nível sérico
Reação cruzada	Espironolactona	Digoxina	Elevação aparente do nível sérico
Reação química	Cefalotina	Creatinina	Elevação aparente do nível sérico
Hemoglobina atípica	Salicilato	Hemoglobina glicada	Elevação aparente do nível sérico
Metabolismo	4-OH-propranolol	Bilirrubina	Elevação aparente do nível sérico

ção de contrastes para exames de imagem, a realização de toque retal, eletromiografia e alguns procedimentos terapêuticos, como hemodiálise, diálise peritoneal, cirurgia, transfusão sanguínea e infusão de fármacos.

Em relação à infusão de fármacos, é importante se lembrar de que a coleta de sangue deve ser realizada sempre em local distante da instalação do cateter, preferencialmente, no outro braço. Mesmo realizando a coleta no outro braço, se possível, deve-se aguardar pelo menos uma hora após o final da infusão para a realização da coleta.

2. Instalação e Infraestrutura Física do Local de Coleta

As recomendações aqui descritas têm por finalidade caracterizar os requisitos mínimos de instalação e infraestrutura, visando à garantia do conforto e segurança dos clientes e equipe do laboratório. Eventualmente, as descrições podem não contemplar na íntegra todos os requisitos legais exigidos pelos órgãos competentes de sua cidade ou estado.

É fundamental uma consulta à legislação local que seja aplicável para o cumprimento das exigências previstas pela vigilância sanitária local.

2.1 Recepção e Sala de Espera

É recomendável que o laboratório clínico possua, pelo menos, uma sala de espera para pacientes e acompanhantes. Esta área pode ser compartilhada com outras unidades diagnósticas, sendo necessária a instalação de sanitários para clientes e acompanhantes.

2.2 Área Física da Sala de Coleta

A sala de coleta deve possuir espaço suficiente para instalação de uma cadeira ou poltrona, armazenamento dos materiais de coleta e um dispositivo para a higienização das mãos (álcool em gel, lavatório ou similares). As dimensões da sala de coleta devem ser suficientes para garantir a livre, segura e confortável movimentação do paciente e do flebotomista, possibilitando um bom atendimento. Há de se lembrar que, em algumas situações, o paciente terá acompanhantes durante o ato de coleta de sangue.

É recomendável a disponibilização de um local com maca para eventuais necessidades.

2.3 Infraestrutura

Recomendam-se alguns itens referentes à infraestrutura da sala de coleta:

- pisos impermeáveis, laváveis e resistentes às soluções desinfetantes;
- paredes lisas e resistentes ou divisórias constituídas de materiais que sejam lisos, duráveis, impermeáveis, laváveis e resistentes às soluções desinfetantes;
- dispositivos de ventilação ambiental eficazes, naturais ou artificiais, de modo a garantir conforto ao cliente e ao flebotomista;
- iluminação que propicie a perfeita visualização e manuseio seguro dos dispositivos de coleta;
- janelas com telas milimétricas, se necessário, caso estas cumpram a função de propiciar a aeração ambiental;
- portas e corredores com dimensões que permitam a passagem de cadeiras de rodas, macas e o livre trânsito dos portadores de necessidades especiais;
- instalação de pias com água corrente que possibilitem ao flebotomista higienizar as mãos entre o atendimento dos pacientes. A lavagem das mãos com água e sabão é recomendável. Onde não houver água disponível, dispositivos específicos para álcool gel ou líquidos com álcool podem ser utilizados.

2.4 Equipamentos e Acessórios

As cadeiras ou poltronas utilizadas para venopunções devem ser desenhadas como o máximo de conforto e segurança para o paciente, levando-se em consideração aspectos ergonômicos e de acessibilidade do paciente para o flebotomista.

O paciente necessita ser acomodado em uma cadeira ou poltrona confortável que permita a regulação da altura do braço, evitando o desconforto do flebotomista.

Armários fixos ou móveis são úteis para organizar o armazenamento dos materiais de coleta de equipamentos e de medicamentos para eventuais situações de emergência.

2.5 Conservação e Limpeza das Instalações

Recomenda-se que as rotinas de limpeza e higienização das instalações sejam orientadas por profissional capacitado para esta atividade ou pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, quando aplicável. É indispensável que sejam tomadas medidas preventivas para eliminação de insetos e roedores.

2.6 Armazenamento dos Resíduos Sólidos de Saúde

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (RDC/ANVISA) n. 306/2004, o armazenamento

externo dos resíduos sólidos de saúde, denominado de abrigo de resíduos, deve ser construído em um ambiente exclusivo e segregado, possuindo, no mínimo, um ambiente separado para armazenamento de recipientes contendo resíduos do Grupo A (resíduo com risco biológico) juntamente com os do Grupo E (material perfurocortante), além de um ambiente para o Grupo D (resíduos comuns). O abrigo deve ser identificado e de acesso restrito aos funcionários responsáveis pelo gerenciamento de resíduos, para que tenham fácil acesso aos recipientes de transporte e aos veículos coletores. Os recipientes de transporte interno não podem transitar pela via externa à edificação.

Ainda de acordo com esta norma, o abrigo de resíduos deve ser dimensionado de acordo com o volume de resíduos gerados, com a capacidade de armazenamento compatível e com a periodicidade da coleta. O piso deve ser revestido de material liso, impermeável, lavável e de fácil higienização. Há necessidade de aberturas para ventilação, de dimensão equivalente a, no mínimo, um vigésimo da área do piso, de tela de proteção contra insetos. A porta ou a tampa do abrigo necessita de largura compatível com as dimensões dos recipientes de coleta. Pontos de iluminação, água e energia elétrica devem ser instalados de acordo com as conveniências e necessidades do abrigo. O escoamento da água deve ser direcionado para a rede de esgoto do estabelecimento. O ralo sifonado deve possuir tampa que permita a sua vedação.

É recomendável que a localização seja tal que não abra diretamente para a área de permanência de pessoas e, circulação de público, dando-se preferência aos locais de fácil acesso à coleta externa e próximos das áreas de guarda de material de limpeza ou expurgo.

O trajeto para o transporte de resíduos, desde a sua geração até o armazenamento externo, deve permitir livre e segura passagem dos recipientes coletores, possuir piso com revestimento resistente à abrasão, com superfície plana e regular, antiderrapante e uma rampa, quando necessário. As informações acerca da inclinação e as características desta rampa podem ser obtidas na RDC ANVISA n. 50/2002

3. Fase Pré-analítica para Exames de Sangue

A fase imediatamente anterior à coleta de sangue para exames laboratoriais, definida na RDC n. 302 como fase que se inicia com a solicitação da análise, passando pela obtenção da amostra e finalizando quando se inicia a análise propriamente dita deve ser objeto de atenção por parte de todas as pessoas envolvidas no atendimento dos pacientes com a finalidade de se prevenir a ocorrência de falhas ou a introdução de variáveis que possam comprometer a exatidão dos resultados.

Assim, é importante entender que a fase pré-analítica necessita de implementações e cuidados na detecção, classificação e adoção de medidas para a redução das falhas. Além disso, quando buscamos especificar a qualidade de nossos sistemas analíticos, pela análise da imprecisão dos mesmos, partimos do pressuposto de que a fase pré-analítica está bem controlada, permitindo assim que os esforços, no estudo dessa imprecisão, venham contribuir para melhoria das fases seguintes, ou seja, a fase analítica e pós-analítica.

É reconhecido que vários processos pré-analíticos devem ser cumpridos antes da análise das amostras. Neles, estão envolvidos os médicos solicitantes, que transmitem as orientações iniciais ao paciente, garantindo o entendimento das orientações por parte deste e sua adesão ao que foi recomendado ou solicitado. Esse aspecto pode ser melhorado pela disponibilização de instruções escritas ou verbais, em linguagem simples, orientando quanto ao preparo e coleta da amostra, tendo como objetivo facilitar o entendimento pelo paciente. Finalmente, as fases que envolvem as atividades no laboratório, como recepção, cadastro, coleta e triagem do material coletado.

Inúmeras podem ser as variáveis na fase pré-analítica que envolvem os processos no laboratório e que são responsáveis por cerca de 60% das falhas, sendo as mais evidentes:

- amostra insuficiente;
- amostra incorreta;
- amostra inadequada;
- identificação incorreta;
- problemas no acondicionamento e transporte da amostra.

É importante estarmos conscientes de que a medida dessas falhas nos diversos processos, por meio de levantamento de indicadores, pode contribuir para busca da causa e consequente melhora dos mesmos.

É necessário estabelecer, em nossos protocolos de coleta, os critérios de rejeição de amostras, evitando, dessa forma, que amostras com problemas sejam analisadas, gerando um resultado que não poderá ser devidamente interpretado em virtude das restrições advindas da inadequação do material coletado. No entanto, é necessário atentar para o fato de que algumas amostras consideradas nobres (líquor, por exemplo) possam ser analisadas, mas que as restrições advindas do processo de obtenção destas sejam evidenciadas no resultado, como prevê a própria RDC n. 302 em seu item 4.3, no qual define o que é amostra laboratorial com restrição.

Quaisquer que sejam os exames a serem realizados, é fundamental a identificação positiva do paciente e dos tubos nos quais será colocado o sangue.

Deve-se buscar uma forma de estabelecer um vínculo seguro e indissociável entre o paciente e o material colhido para que, ao final, seja garantida a rastreabilidade de todo o processo.

3.1 Procedimentos Básicos para Minimizar Ocorrências de Erro

O flebotomista deve se assegurar de que a amostra será colhida do paciente especificado na requisição de exames.

3.1.1 Para pacientes adultos e conscientes

- Pedir que forneça nome completo, número da identidade, ou data de nascimento.
- Comparar estas informações com as constantes na requisição de exames.

3.1.2 Para pacientes internados

- Em geral, os hospitais disponibilizam etiquetas pré-impressas com os dados de identificação necessários. Mesmo assim, o flebotomista deve verificar a identificação no bracelete ou a identificação postada na entrada do quarto, quando disponível. O número do leito nunca deve ser utilizado como critério de identificação. Em unidades fechadas, como Centro de Terapia Intensiva ou Unidades Intermediárias, o flebotomista deve, em caso de dúvidas na identificação, buscar ajuda dos profissionais daquele setor com o propósito de assegurar a adequada identificação do paciente.
- Relatar ao supervisor do laboratório qualquer discrepância de informação.

3.1.3 Para pacientes muito jovens ou com algum tipo de dificuldade de comunicação

- O flebotomista deve valer-se de informações de algum acompanhante ou da enfermagem.
- Pacientes atendidos no pronto-socorro ou em salas de emergência podem ser identificados pelo seu nome e número de entrada no cadastro da unidade de emergência.

É indispensável que a identificação possa ser rastreada a qualquer instante do processo.

O material colhido deve ser identificado na presença do paciente. Nos sistemas manuais, isto pode ser feito pela colocação, nos tubos de coleta, de etiquetas com o nome do paciente, a data da coleta e o número sequencial de atendimento. Este número deve constar em todos os documentos, amostras,

mapas de trabalho, relatórios e laudo final. Existem processos informatizados simples que geram um número pré-determinado de etiquetas, na dependência dos exames a serem realizados.

Serviços mais complexos fazem uso de etiquetas com código de barras que vinculam, de forma segura, a amostra em todas as fases do processo. Muitos dos equipamentos analíticos atualmente disponíveis conseguem identificar o paciente e reconhecer quais exames devem ser realizados naquela amostra. Além disso, estão disponíveis no mercado equipamentos que, na fase de cadastro, geram as etiquetas e dispensam, em caixas individuais, os tubos necessários aos diferentes procedimentos e as respectivas etiquetas com códigos de barra, contribuindo, portanto, para maior segurança e rastreabilidade do processo.

Um cuidado importante que os laboratórios devem ter na coleta do material do paciente é a adequada rastreabilidade dos insumos (tubos, seringas e agulhas) podendo, quando necessário, estabelecer uma ligação entre o material colhido e os lotes dos produtos utilizados no procedimento de coleta do sangue. O suprimento desses materiais pode ser controlado por meio de planilhas em que se pode anotar a data do suprimento, o lote e a validade, a fim de estabelecer um controle melhor e possibilitar, dessa forma, a investigação de falhas de fabricação do insumo e, consequentemente, falha na qualidade da amostra coletada.

O sistema de identificação adotado deve contemplar a possibilidade de geração de etiquetas adicionais, para os casos em que for necessário alíquotar a amostra original para ser enviada a diferentes áreas do laboratório, a outro laboratório ou ao armazenamento.

Recomenda-se que materiais não colhidos no laboratório sejam identificados como “amostra enviada ao laboratório”, e o laudo contenha essa informação.

É importante verificar se o paciente está em condições adequadas para a coleta, especialmente no que se refere ao jejum e ao uso de eventuais medicações. Para a maioria dos exames de sangue, é necessário apenas um curto período de tempo em jejum, de 3 a 4 horas. Alguns exames requerem cuidados específicos quanto a dietas especiais, enquanto outros exigem condições peculiares, por exemplo, a necessidade de repouso antes da coleta de sangue, como exigido para a dosagem de prolactina ou de catecolaminas plasmáticas.

Nos exames de monitoração terapêutica, para permitir adequada interpretação dos resultados, algumas informações mais específicas devem ser obtidas no momento da coleta, como o horário da última medicação, bem como a dosagem e via de administração do medicamento. Dessa forma, o paciente não deve ser considerado um agente passivo do processo mas, sim, um dos integrantes da equipe. Para que possa desempenhar adequadamente essa função,

ele deve receber, previamente, algumas informações referentes aos procedimentos da coleta de sangue, ao exame que será realizado e às condições nas quais ele deve se apresentar ao laboratório. De uma forma ideal, essas informações e instruções devem ser fornecidas por escrito e o paciente deve ter oportunidade de esclarecer eventuais dúvidas.

São aspectos relevantes, dentre outros, o tempo de jejum, a necessidade de abstenção de fumo e/ou álcool, o registro do uso contínuo de alguma medicação, a realização de algum procedimento diagnóstico ou terapêutico prévio. Objetivando evitar desconforto desnecessário, convém sempre informar ao paciente que a ingestão de água não interfere, não “quebra” o jejum, exceto em exames muito específicos.

Para obtenção de soro, o sangue é colhido em tubo sem anticoagulante e deixado coagular por um período de 30 a 60 minutos, à temperatura ambiente. Quando o tubo contiver gel separador, com ativador da coagulação, a espera pode ser de 30 a 45 minutos. Após este tempo, o tubo é centrifugado e a parte líquida, correspondente ao soro, é separada. O plasma é obtido pela centrifugação do sangue total anticoagulado. Quando for necessário o uso de sangue total ou plasma, utilizar anticoagulantes específicos, dependendo do exame a ser realizado.

Para alguns exames, além do anticoagulante, pode ser necessária a adição de um conservante. Cada uma destas frações do sangue se constitui na matriz ideal para a realização de exames específicos. Assim, por exemplo, para o hemograma, é utilizado sangue total, anticoagulado pela adição de ácido etileno-diaminotetraacético-EDTA; a dosagem de glicose é realizada no plasma obtido pela adição de EDTA e fluoreto de sódio e, para a dosagem de creatinina utiliza-se, em geral, soro.

Algumas substâncias podem ser dosadas tanto no soro quanto no plasma, ainda que existam diferenças entre os resultados obtidos, conforme descritos na Tabela 2.

As vantagens da utilização de plasma em relação ao soro incluem redução do tempo de espera para a coagulação, obtenção de maior volume de plasma do que de soro e ausência de interferência advinda do processo de coagulação. Os resultados são mais representativos do estudo *in vivo*, quando comparados aos do soro.

Há menor risco de interferência por hemólise, visto que a hemoglobina livre, em geral, está em mais baixa concentração no plasma do que no soro.

As plaquetas permanecem intactas, não proporcionando pseudo-hipercalcemia, como pode ocorrer no soro. Por outro lado, o plasma apresenta algumas desvantagens, como: alteração da eletroforese das proteínas, uma vez que con-

Tabela 2 - Diferença percentual entre resultados obtidos no soro e no plasma

Substância	% de variação em comparação à sua medida no plasma	Principal causa da diferença no soro/plasma
Potássio	+ 6,2	Lise das células
Fósforo inorgânico	+10,7	Liberção de elementos celulares
Proteínas totais	- 5,2	Efeito do fibrinogênio
Amônia	+ 38	Trombocitólise, hidrólise
Lactato	+ 22	Liberção de elementos celulares

Fonte: adaptado de Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Samples: from the patient to the laboratory. 2nd edition. Darmstadt: Git Verlag, 2001.

tém fibrinogênio, que se revela como um pico na região de gamaglobulinas, podendo mascarar ou simular um componente monoclonal; potencial interferência método-dependente pelo fato de os anticoagulantes serem agentes complexantes e inibidores enzimáticos; por fim, a possibilidade de ocorrer cátion-interferência quando sais de heparina são usados, afetando, por exemplo, alguns dos métodos de dosagem de lítio e amônia.

3.2 Definição de Estabilidade de Amostra

As amostras, para serem representativas, devem ter sua composição e integridade mantidas durante as fases pré-analíticas de coleta, manuseio, transporte e eventual armazenagem.

A estabilidade de uma amostra sanguínea é definida pela capacidade dos seus elementos se manterem nos valores iniciais, dentro de limites de variação aceitáveis, por um determinado período de tempo. Portanto, a medida da instabilidade pode ser definida como sendo a diferença absoluta (variação dos valores inicial e final, expressa na unidade em que o determinado parâmetro é medido); como um quociente (razão entre o valor obtido após um determinado tempo e o valor obtido no momento em que a amostra foi coletada), ou ainda como uma porcentagem de desvio.

Por exemplo, se durante o transporte de uma amostra de sangue por 3 a 4 horas, em temperatura ambiente, o potássio aumentar de 4,2 mmol/L para 4,6 mmol/L, a diferença absoluta será de 0,4 mmol/L; o quociente será de 1,095 e o desvio será igual a + 9,5%.

O Conselho Médico Federal da Alemanha definiu que a instabilidade máxima permitida equivale geralmente a 1/12 do intervalo de referência biológico.

A estabilidade pré-analítica depende de vários fatores, que incluem temperatura, carga mecânica e tempo, sendo este o fator que causa maior impacto. A

estabilidade de uma amostra pode ser muito afetada na presença de distúrbios específicos. Além disso, o tempo máximo de estabilidade de uma amostra deveria ser o que permite 95% de estabilidade dos seus componentes.

Tendo em vista que apenas alguns estudos sistemáticos estão disponíveis, é sempre conveniente consultar a literatura especializada para casos especiais. Em geral, os tempos referidos de armazenagem das amostras primárias consideram os seguintes limites para a temperatura: ambiente de 18 a 25°C refrigeradas, de 4 a 8°C, e congeladas, abaixo de 20°C negativos.

Na prática, utiliza-se a regra de que quando não houver especificação de tratamento especial para o acondicionamento ou transporte do material, este poderá ser deslocado para postos ou outras unidades em caixa de isopor com gelo reciclável, calçado por flocos de isopor ou papel jornal. Assim, conserva-se mais a temperatura das amostras, que podem ser recebidas à temperatura ambiente. Deve-se observar que as amostras não devem ficar em contato direto com gelo para evitar hemólise. A condição de congelamento recomenda o uso do gelo seco no transporte. É importante considerar que algumas substâncias, como alguns dos fatores de coagulação e algumas enzimas, são termo-insuficientes, não se preservando em baixas temperaturas, ou seja, nem sempre, refrigerar ou congelar garante a preservação da integridade da amostra.

Convém salientar, ainda, que, para enviar uma amostra congelada e refrigerada, um material isolante, como um recipiente de poliestireno, é adequado. Gelo seco deve ser usado para conservar a amostra congelada. Precauções devem ser tomadas para garantir que o recipiente que contém gelo seco seja capaz de liberar o dióxido de carbono para evitar a formação de pressão, o que poderia causar a explosão do pacote.

Durante o processo de estocagem, os constituintes do sangue podem sofrer alterações que incluem adsorção no vidro ou tubo plástico, desnaturação da proteína, bem como atividades metabólicas celulares que continuam a ocorrer. Mesmo amostras congeladas são passíveis de alterações em certos constituintes metabólicos ou celulares. Congelar e descongelar amostras é, particularmente, uma condição importante a ser considerada. Assim, amostras de plasma ou soro que são congeladas e descongeladas têm rupturas de algumas estruturas moleculares, sobretudo, as moléculas de grandes proteínas. Congelamentos lentos também causam degradação de alguns componentes.

Com relação ao envio de amostras entre laboratórios, vale lembrar a existência de regras e diretrizes da terceirização, definidas nas leis n. 6.019, de 3 de janeiro de 1974, e n. 7.102, de 20 de julho de 1983, além dos critérios estabelecidos na Portaria n. 472, de 9 de março de 2009 – Resolução GMC 50/08 “Regulamento Técnico para Transporte de Substâncias Infecciosas e Amostras Bio-

lógicas entre Estados Partes do MERCOSUL”. Outro ponto importante é a logística de transporte do material biológico, a fim de que as amostras se mantenham viáveis até o momento do processo analítico. Esse transporte deve seguir as recomendações da ONU, apresentadas no documento “Transporte de Substâncias Infecciosas”, em sua 13ª revisão, publicada em 2004. No Brasil, o transporte de substâncias infecciosas é considerado como transporte de produtos perigosos, desde que se enquadre na Portaria 204, de 1997, e que corresponda à 7ª edição das Recomendações da Organização Mundial de Saúde – OMS, editadas em 1991 e revisadas em 2004.

3.3 Transporte de Amostra como Fator de Interferência Pré-analítica

Uma vez coletada e identificada adequadamente, a amostra deverá ser encaminhada para o setor de processamento, que poderá estar localizado na mesma estrutura física onde foi realizada a coleta, ou afastado a distâncias variadas.

Há diversas maneiras de se transportar amostras: entre unidades de um mesmo laboratório, entre unidades diferentes na mesma cidade ou mesmo para unidades do exterior. Em geral, o transporte ocorre rapidamente quando os laboratórios estão próximos e não apresenta grandes dificuldades, desde que as amostras sejam acondicionadas em maletas que ofereçam garantia de biossegurança no transporte.

O processamento inicial da amostra inclui etapas que vão da coleta até a realização do exame e compreendem três fases distintas: pré-centrifugação, centrifugação e pós-centrifugação. Quando os exames não forem realizados logo após a coleta, as amostras devem ser processadas até o ponto em que possam aguardar as dosagens em condições para que não haja interferência significativa em seus constituintes.

O tempo entre a coleta e centrifugação do sangue não deve exceder uma hora. As amostras colhidas com anticoagulante, nas quais o exame será realizado em sangue total, devem ser mantidas refrigeradas até o procedimento, em temperatura de 4 a 8°C. Plasma, soro e sangue total podem ser usados para a realização de alguns exames, embora os constituintes estejam distribuídos em concentrações diferentes entre estas matrizes. Assim, resultados no sangue total são diferentes daqueles obtidos no plasma ou soro em função da distribuição de água nas hemácias: um determinado volume de plasma ou de soro contém 93% de água, enquanto o mesmo volume de sangue total possui apenas 81% de água.

Os laboratórios podem utilizar empresas especializadas em estudo de cadeia fria para melhor adequação de seus processos de transporte.

Quando amostras de pacientes serão enviadas a um laboratório distante, regras de biossegurança devem ser cumpridas. Não se esquecendo de que a in-

tegridade da amostra deve ser garantida durante todo o transporte a fim de que se tenha precisão nos resultados obtidos. Deve-se prevenir o vasamento da amostra, protegê-la de choque e variações de pressão. Regras para o embarque aéreo são detalhadas pela Organização Aérea Civil Internacional (OACI) na parte sobre instruções técnicas para o transporte seguro de mercadorias perigosas por via aérea.

A Associação Aérea de Transporte Internacional (IATA) exige que as embalagens sejam marcadas com o termo “Amostra para Diagnóstico”. Nos Estados Unidos, o regulamento da Occupational Safety & Health Administration (OSHA) exige que uma etiqueta com o símbolo de BIORRISCO seja afixada na embalagem.

O documento do CLSI H18-A3, *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline*, 3rd ed., descreve os procedimentos para manipulação e transporte de amostras de diagnóstico.

4. Procedimentos de Coleta de Sangue Venoso

As recomendações adotadas a seguir se baseiam nas normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), na literatura sobre o assunto, bem como na experiência dos autores.

O CLSI é uma organização internacional, interdisciplinar, sem fins lucrativos, reconhecida mundialmente por promover o desenvolvimento e a utilização de normas e diretrizes voluntárias no âmbito dos cuidados de saúde da comunidade.

Seus documentos são ferramentas valiosas para que os serviços de saúde cumpram a sua responsabilidade com eficiência, efetividade e aceitação global. São elaborados por peritos que trabalham em subcomissões ou grupos de trabalho num processo dinâmico. Cada comissão está empenhada em produzir documentos de consenso relativos a uma determinada disciplina. Essas comissões estão assim distribuídas: automação e informática; química clínica e toxicologia; testes laboratoriais remotos; métodos moleculares; imunologia; hematologia; citometria de fluxo; microbiologia; protocolos de avaliação; sistemas de qualidade e práticas laboratoriais; coleta de amostras e seu manuseio.

As abreviaturas empregadas neste documento serão as da CLSI, quando fizermos referência às normas dessa instituição.

4.1 Generalidades sobre a Venopunção

A venopunção é um procedimento complexo, que exige conhecimento e habilidade. Quando uma amostra de sangue for colhida, um profissional experiente deve seguir algumas etapas:

- verificar a solicitação do médico e o cadastro do pedido;
- apresentar-se ao paciente, estabelecendo comunicação e ganhando sua confiança;
- explicar ao paciente ou ao seu responsável o procedimento ao qual o paciente será submetido, seguindo a política institucional com habilidade, para a obtenção de consentimento para o procedimento;
- fazer a assepsia das mãos entre o atendimento dos pacientes, conforme recomendação do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) no documento sobre “Diretriz para Higiene de Mãos” e também conforme o documento do CLSI H3-A6, *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard – 6th ed*;
- realizar a identificação de pacientes:
 - conscientes: confirmar os dados pessoais, comparando-os com aqueles do pedido. Se o paciente estiver internado, fazer a comparação com o seu bracelete de internação. Havendo discrepâncias entre as informações, estas deverão ser resolvidas antes da coleta da amostra;
 - inconscientes, muito jovens ou que não falam a língua do flebotomista: confirmar os dados cadastrais com o acompanhante ou equipe da enfermagem assistencial, anotando o nome da pessoa que forneceu as informações. Comparar os dados fornecidos com os contemplados na documentação ou no pedido. Se for paciente internado e houver bracelete, fazer o confronto com as informações contidas neste. Havendo discrepâncias, estas deverão ser resolvidas antes da coleta da amostra;
 - semiconscientes, comatosos ou dormindo: o paciente deve ser despertado antes da coleta de sangue. Em situação de paciente internado, se não for possível identificá-lo, entrar em contato com o enfermeiro ou médico-assistente. Em pacientes comatosos, cuidado adicional deve ser tomado para prevenir movimentos bruscos ou vibrações, enquanto a agulha estiver sendo introduzida ou quando já estiver inserida na veia. Havendo acidentes durante a coleta, estes deverão ser imediatamente notificados à equipe assistencial (enfermagem e/ou médicos);
 - não identificado na sala de emergência: nestes casos, deve haver uma identificação provisória, até que haja a identificação positiva. Para estes casos, o registro institucional temporário deve ser preparado. Quando a identificação do paciente estiver correta e for considerada permanente, deve-se rastrear a identificação provisória;
 - verificar se as condições de preparo e o jejum do paciente estão adequados e indagar sobre eventual alergia ao látex (para o uso de luvas e do torniquete adequados para essa situação). Lembrar que casos de hi-

persensibilidade ao látex podem ocorrer, sendo dever do laboratório prevenir riscos.

4.2 Locais de Escolha para Venopunção

A escolha do local de punção representa uma parte vital do diagnóstico. Existem diversos locais que podem ser escolhidos para a venopunção, como discutiremos a seguir.

O local de preferência para as venopunções é a fossa antecubital, na área anterior do braço em frente e abaixo do cotovelo, onde está localizado um grande número de veias, relativamente próximas à superfície da pele.

As veias desta localização variam de pessoa para pessoa, entretanto, há dois tipos comuns de regimes de distribuição venosa: um com formato de H e outro se assemelhando a um M. O padrão H foi assim denominado devido às veias que o compõem (cefálica, cubital mediana e basílica) distribuírem-se como se fosse um H, ele representa cerca de 70% dos casos. No padrão M, a distribuição das veias mais proeminentes (cefálica, cefálica mediana, basílica mediana e basílica) assemelha-se à letra M.

Embora qualquer veia do membro superior que apresente condições para coleta possa ser puncionada, as veias cubital mediana e cefálica são as mais frequentemente utilizadas. Dentre elas, a veia cefálica é a mais propensa à formação de hematomas e pode ser dolorosa ao ser puncionada. As Figuras 1 e 2 mostram a localização das veias do membro superior e do dorso da mão, respectivamente.

Quando as veias desta região não estão disponíveis ou são inacessíveis, a veias do dorso da mão também podem ser utilizadas para a venopunção. Veias na parte inferior do punho não devem ser utilizadas porque, assim como elas, os nervos e tendões estão próximos à superfície da pele nessa área.

Locais alternativos, tais como tornozelos ou extremidades inferiores, não devem ser utilizados sem a permissão do médico, devido ao potencial significativo de complicações médicas, por exemplo: flebites, trombozes ou necrose tissular.

Atenção: *punções arteriais não devem ser consideradas como uma alternativa à venopunção pela dificuldade de coleta. Isso deve ser considerado apenas mediante autorização do médico-assistente.*

Já no dorso da mão, o arco venoso dorsal é o mais recomendado por ser mais calibroso, porém a veia dorsal do metacarpo também poderá ser puncionada.

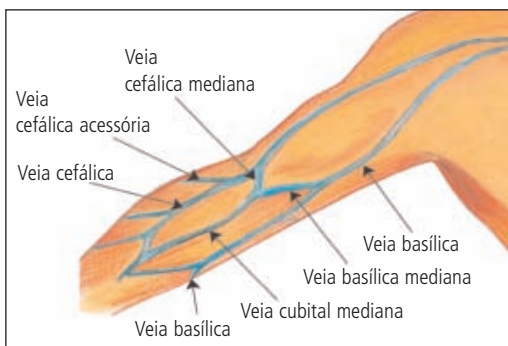


Figura 1: Veias do membro superior.

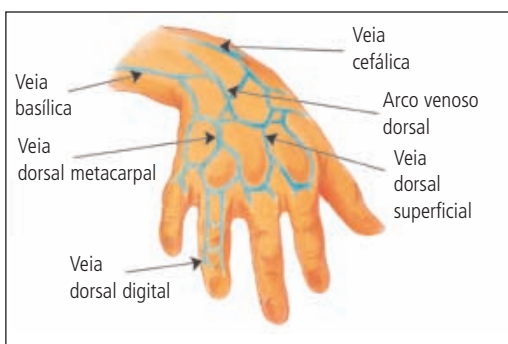


Figura 2: Veias do dorso da mão.

Áreas a serem evitadas para a venopunção

- Preferencialmente amostras de sangue não devem ser coletadas nos membros onde estiverem instaladas terapias intravenosas.
- Evitar locais que contenham extensas áreas cicatriciais de queimadura.
- Um médico deve ser consultado antes da coleta de sangue ao lado da região onde ocorreu a mastectomia, em função das potenciais complicações decorrentes da linfostase.
- Áreas com hematomas podem gerar resultados errados de exames, qualquer que seja o tamanho do hematoma. Se outra veia, em outro local, não estiver disponível, a amostra deve ser colhida distalmente ao hematoma.
- Fístulas arteriovenosas, enxertos vasculares ou cânulas vasculares não devem ser manipulados por pessoal não autorizado pela equipe médica, para a coleta de sangue.
- Evite puncionar veias trombosadas. Essas veias são pouco elásticas, assemelham-se a um cordão e têm paredes endurecidas.

Técnicas para evidenciação da veia

- Observação de veias calibrosas.
- Movimentação: pedir para o paciente abaixar o braço e fazer movimentos de abrir e fechar a mão. Os movimentos de abertura das mãos reduzem a pressão venosa, com o relaxamento muscular.
- Massagens: massagear suavemente o braço do paciente (do punho para o cotovelo).
- Palpação: realizada com o dedo indicador do flebotomista. Não utilizar o dedo polegar devido à baixa sensibilidade da percepção da pulsação. Esse procedimento auxilia na distinção entre veias e artérias pela presença de pulsação, devido à maior elasticidade e à maior espessura das paredes dos vasos arteriais.
- Fixação das veias com os dedos, nos casos de flacidez.
- Transiluminação: procedimento pelo qual o flebotomista utiliza uma ou duas fontes primárias de luz (a primeira, de alta intensidade; a segunda usa LED). O equipamento transiluminador cutâneo é de grande auxílio à localização de veias, por meio de feixes de luz emitidos no interior do tecido subcutâneo do paciente. O usuário deve fixar o garrote da maneira usual, deslizando o transiluminador pela pele, sempre aderindo a superfície para não haver dispersão de luz. As veias serão vistas como linhas escuras. Uma vez definido qual o melhor local para punção, o transiluminador é fixado na região escolhida, cuidando-se para que não atrapalhe o fluxo sanguíneo. Há introdução da agulha, completando o procedimento como de costume. O transiluminador é particularmente útil em: neonatos, pacientes pediátricos, pacientes idosos, pacientes obesos, pacientes com hipotensão, cuja localização das veias é difícil.

4.3 Uso Adequado do Torniquete

O torniquete é empregado para aumentar a pressão intravascular, o que facilita a palpação da veia e o preenchimento dos tubos de coleta ou da seringa.

No ato da venopunção devem estar disponíveis torniquetes ou produtos utilizados como tal. Eles incluem:

- Torniquete de uso único, descartável, preferencialmente livre de látex.
- Manguito inflado do esfigmomanômetro a até 40 mmHg para adultos.

Deve-se evitar o uso de torniquetes de tecidos emborrachados, com fechamento em grampo plástico, fivela ou com tipos similares de fixação.

Caso o torniquete tenha látex em sua composição, deve-se perguntar ao paciente se ele tem alergia a esse componente. Caso o paciente seja alérgico a látex, não efetuar o garroteamento com esse material.

Os torniquetes devem ser descartados imediatamente quando forem contaminados com sangue ou fluidos corporais.

É possível que, sem a aplicação do torniquete, o flebotomista não seja capaz de priorizar a veia antecubital com a segurança requerida.

Precauções no uso de torniquete

- É muito importante fazer uso adequado do torniquete (Figuras 3, 4 e 5).
- Quando a sua aplicação excede um minuto, pode ocorrer estase localizada, hemoconcentração e infiltração de sangue para os tecidos, gerando valores falsamente elevados para todos os analitos baseados em medidas de proteínas, alteração do volume celular e de outros elementos celulares.
- O uso inadequado pode levar à situação de erro diagnóstico (como hemólise, que pode tanto elevar o nível de potássio como alterar a dosagem de cálcio etc.), bem como gerar complicações durante a coleta (hematomas, formigamento e, em casos extremos, sinal de Trousseau etc.).
- Havendo lesões de pele no local pretendido, deve-se considerar a possibilidade da utilização de um local alternativo ou aplicar o torniquete sobre a roupa do paciente.



Aplicação do
torniquete



Figuras 3 e 4: Uso adequado do torniquete.



Torniquete de
7,5 a 10,0 cm

Figura 5: Posicionamento correto do torniquete.

Procedimentos

- Posicionar o braço do paciente, inclinando-o para baixo, a partir da altura do ombro.
- Posicionar o torniquete com o laço para cima, a fim de evitar a contaminação da área de punção.
- Não aplicar, no momento de seleção venosa, o procedimento de “bater na veia com dois dedos”. Esse tipo de procedimento provoca hemólise capilar e, portanto, altera o resultado de certos analitos.
- Se o torniquete for usado para seleção preliminar da veia, fazê-lo apenas por um breve momento, pedindo ao paciente para fechar a mão. Localizar a veia e, em seguida, afrouxar o torniquete. Esperar 2 minutos para usá-lo novamente.
- O torniquete não deverá ser usado em alguns testes como lactato ou cálcio, para evitar alteração no resultado.
- Aplicar o torniquete de 7,5 a 10,0 cm acima do local da punção, para evitar a contaminação do local.
- Não usar o torniquete continuamente por mais de 1 minuto.
- Ao garrotear, pedir ao paciente que feche a mão para evidenciar a veia.
- Não apertar intensamente o torniquete, pois o fluxo arterial não deve ser interrompido. O pulso deve permanecer palpável.
- Trocar o torniquete sempre que houver suspeita de contaminação.

Posição do paciente

- A posição do paciente também pode acarretar erros em resultados.
- O desconforto do paciente, agregado à ansiedade do mesmo, pode levar à liberação indevida de alguns analitos na corrente sanguínea.

A seguir, serão apresentadas algumas recomendações que facilitam a coleta de sangue e promovem um perfeito atendimento ao paciente neste momento.

Procedimentos em paciente sentado

- Pedir ao paciente que se sente confortavelmente em uma cadeira própria para coleta de sangue. Recomenda-se que a cadeira tenha apoio para os braços e previna quedas, caso o paciente venha a perder a consciência. Cadeiras sem braços não fornecem o apoio adequado para o braço, nem protegem pacientes em casos de desfalecimento.
- Recomenda-se que, no descanso da cadeira, a posição do braço do paciente seja inclinada levemente para baixo e estendida, formando uma li-

nha direta do ombro para o pulso. O braço deve estar apoiado firmemente pelo descanso e o cotovelo não deve estar dobrado. Uma leve curva pode ser importante para evitar hiperextensão do braço.

Procedimento em paciente em leito

- Pedir ao paciente que se coloque em uma posição confortável.
- Caso esteja em posição supina e um apoio adicional for necessário, coloque um travesseiro debaixo do braço em que a amostra será colhida.
- Posicione o braço do paciente inclinado levemente para baixo e estendido, formando uma linha direta do ombro para o pulso.
- Caso esteja em posição semissentada, o posicionamento do braço para coleta torna-se relativamente mais fácil.

4.4 Procedimentos para Antissepsia e Higienização em Coleta de Sangue Venoso

Algumas considerações são importantes sobre o uso de soluções de álcool tanto na antissepsia do local da punção como na higienização das mãos. Discorreremos a seguir sobre estes aspectos.

Segundo Rotter, quando se compara a eficácia dos vários métodos de higiene das mãos na redução da flora permanente, a fricção de álcool apresentou os melhores resultados tanto na ação imediata, quanto na manutenção da eficácia após três horas da aplicação.

O álcool apresenta um amplo espectro de ação envolvendo bactérias, fungos e vírus, com menor atividade sobre os vírus hidrofílicos não envelopados, particularmente os enterovírus. Durante o tempo usual de aplicação para antissepsia das mãos, ele não apresenta ação esporídica.

Em concentrações apropriadas, os álcoois possuem rápida e maior redução nas contagens microbianas. Quanto maior o peso molecular do álcool, maior ação bactericida. Dados da literatura orientam que as soluções alcoólicas sejam preparadas com base no peso molecular e não no volume a ser aplicado, afirmando que o álcool a 70% é o que possui, dentre outras concentrações, a maior eficácia germicida *in vitro*.

Com relação à antissepsia da pele no local da punção, usada para prevenir a contaminação direta do paciente e da amostra, o antisséptico escolhido deve ser eficaz, ter ação rápida, ser de baixa causticidade e hipoalergênci na pele e mucosa.

Os álcoois etílico e isopropílico são os que possuem efeito antisséptico na concentração de 70%, contudo, o etanol é o mais usado, pois, nessa composi-

ção, preserva-se sua ação antisséptica e diminui-se sua inflamabilidade. Nesta diluição, tem excelente atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, boa atividade contra *Mycobacterium tuberculosis*, fungos e vírus, além de ter menor custo.

Hoje, alguns países da América do Norte aboliram o uso de álcool etílico, devido à sua inflamabilidade, utilizando o álcool isopropílico nos laboratórios e hospitais.

4.4.1 Higienização das mãos

As mãos devem ser higienizadas após o contato com cada paciente, evitando, assim, a contaminação cruzada.

A higienização pode ser feita com água e sabão, conforme o procedimento ilustrado na Figura 6, ou usando álcool gel.

A fricção com álcool reduz em 1/3 o tempo despendido pelos profissionais de saúde para a higiene das mãos, aumentando a aderência a esta ação básica de controle. Quanto às desvantagens, é citado o odor que fica nas mãos e a inflamabilidade, que é observada apenas com as soluções de etanol acima de 70%.



Figura 6: Higienização das mãos.

4.4.2 Colocando as luvas

Luvas

As luvas descartáveis são barreiras de proteção, e podem ser confeccionadas em látex, vinil, polietileno ou nitrila.

Alguns funcionários podem desenvolver dermatite pelo uso prolongado desses equipamentos de proteção individual. Para esses casos, luvas de outros

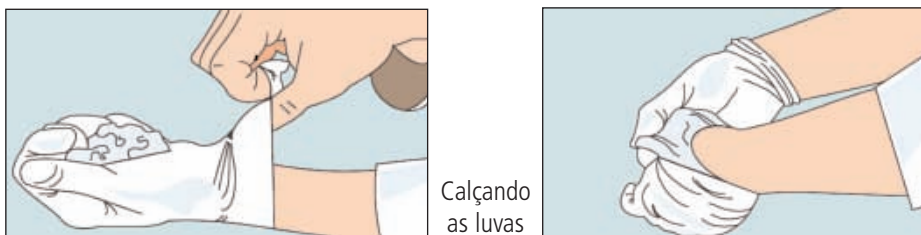
materiais devem ser experimentadas (nitrila, polietileno e outras composições). O uso de luvas sem talco, assim como a utilização de luvas revestidas internamente de algodão, também podem ser uma alternativa para estes funcionários sensibilizados.

É prudente verificar se o paciente tem hipersensibilidade ao látex, pois há relatos de choque anafilático na literatura. Nessas situações, as luvas de látex devem ser evitadas.

Procedimento

As luvas devem ser trocadas antes da realização da venopunção.

As luvas devem ser calçadas, com cuidado, para que não rasguem. Devem ficar bem aderidas à pele, para que o flebotomista não perca a sensibilidade no momento da punção (Figuras 7 e 8).



Figuras 7 e 8: Procedimento para vestir as luvas.

4.4.3 Antissepsia do local da punção

O procedimento de venopunção deve ser precedido pela higienização do local para prevenir a contaminação microbiana de cada paciente ou amostra.

Antissépticos

- Para a preparação da pele, o uso de antissépticos é necessário.
- Dentre eles, citamos: álcool isopropílico 70% ou álcool etílico, iodeto de povidona 1 a 10% ou gluconato de clorexidina para hemoculturas, substâncias de limpeza não-alcoólicas (como clorexidina, sabão neutro).

Procedimento

- Recomenda-se usar uma gaze umedecida com solução de álcool isopropílico ou etílico 70%, comercialmente preparado (Figura 9).

- Limpar o local com um movimento circular do centro para fora (Figura 10).
- Permitir a secagem da área por 30 segundos para prevenir hemólise da amostra e reduzir a sensação de ardência na venopunção.
- Não assoprar, não abanar e não colocar nada no local.
- Não tocar novamente na região após a antissepsia.
- Se a venopunção for difícil de ser obtida e a veia precisar ser palpada novamente para efetuar a coleta, o local escolhido deve ser limpo novamente.

Nota: Quando houver solicitação de dosagem de álcool no sangue, um antisséptico sem álcool deve ser usado no local da punção, conforme recomenda o documento do CLSI T/DM6A – Blood Alcohol Testing in the Clinical Laboratory; Approved Guideline.



Figura 9: Abrindo a embalagem de álcool swab.



Figura 10: Procedimento para antissepsia: movimento do centro para fora.

4.5 Critérios para Escolha da Coleta de Sangue Venoso a Vácuo ou por Seringa e Agulha

Recomenda-se que o hospital e o laboratório estabeleçam uma política institucional para a escolha da técnica de coleta de sangue.

Esses critérios de escolha da metodologia a ser utilizada na coleta de sangue vão além do custo do material, devendo ser observados: a finalidade do procedimento, o tipo de clientela, a habilidade dos flebotomistas e as características da instituição.

O flebotomista desempenha um papel importante na garantia da qualidade deste processo.

Alguns pontos relevantes na escolha da técnica e do material de coleta de sangue são apontados a seguir.

4.5.1 Considerações sobre coleta de sangue venoso a vácuo

Aspectos Históricos

Em 1943, a Cruz Vermelha Americana fez uma solicitação a uma empresa de materiais hospitalares para que desenvolvesse um jogo descartável e estéril para coleta de sangue. Uma vez embalado, o material deveria manter a esterilidade para uso em campos de guerra.

O resultado foi a criação de um dispositivo que permitia a aspiração do sangue diretamente da veia, através de vácuo, utilizando uma agulha de duas pontas que se conectava diretamente ao tubo de análise, constituindo o sistema para coleta de sangue a vácuo. Desde então, aprimoramentos e inovações foram agregados a estes dispositivos, transformando o sistema para coleta de sangue num procedimento seguro, prático e proporcionando maior qualidade do espécime diagnóstico.

4.5.2 Coleta de sangue a vácuo

A coleta de sangue a vácuo é a técnica de coleta de sangue venoso recomendada pelo CLSI atualmente. É usada mundialmente e na maioria dos laboratórios brasileiros, pois proporciona ao usuário inúmeras vantagens:

- a facilidade no manuseio é um destes pontos, pois o tubo para coleta de sangue a vácuo tem, em seu interior, vácuo calibrado e em capacidade proporcional ao volume de sangue informado em sua etiqueta externa, o que significa que, quando o sangue parar de fluir para dentro do tubo, o flebotomista terá a certeza de que o volume de sangue correto foi colhido. A quantidade de anticoagulante/ativador de coágulo é proporcional ao volume de sangue a ser coletado, gerando, ao final da coleta, uma amostra de qualidade para ser processada ou analisada;
- o conforto ao paciente é essencial, pois com uma única punção venosa pode-se, rapidamente, colher vários tubos, abrangendo todos os exames solicitados pelo médico;
- pacientes com acessos venosos difíceis, como crianças, pacientes em terapia medicamentosa, quimioterápicos etc., também são beneficiados, pois existem produtos que facilitam essas coletas (escalpes para coleta

múltipla de sangue a vácuo em diversos calibres de agulha e tubos para coleta de sangue a vácuo com menores volumes de aspiração). Outro ponto relevante a ser observado é o avanço da tecnologia em equipamentos para diagnóstico e *kits* com maior especificidade e sensibilidade, que hoje requerem um menor volume de amostra do paciente.

- garantia da qualidade nos resultados dos exames, fator relevante e primordial em um laboratório.
- segurança do profissional de saúde e do paciente, uma vez que a coleta a vácuo é um sistema fechado de coleta de sangue: ao punccionar a veia do paciente, o sangue flui diretamente de sua veia para o tubo de coleta a vácuo. Isso proporciona ao flebotomista biossegurança, pois não há necessidade do manuseio da amostra de sangue. Por esses e outros fatores, como a diferença do acesso venoso de um paciente para outro, recomendamos que sejam observados alguns pontos relevantes para a coleta adequada.

4.5.3 Considerações sobre coleta de sangue venoso com seringa e agulha

A coleta de sangue com seringa e agulha é usada há muitos anos. Por ser a técnica mais antiga desenvolvida para coleta de sangue venoso, enraizou-se em algumas áreas de saúde, pois o mesmo produto é usado para infundir medicamentos.

No entanto, além de causar potenciais erros pré-analíticos, a coleta com seringa e agulha é um procedimento de risco para o profissional de saúde que, além de manusear o sangue, deve também descartar, de maneira segura, o dispositivo perfurocortante em descartador adequado. Com o advento da NR32, dispositivos de segurança (Figura 11a) devem estar acoplados nos materiais perfurocortantes (agulhas, escalpes etc.), inclusive as agulhas hipodérmicas, e o manuseio de material biológico deve ser o mínimo possível.

De acordo com a CLSI, a venopunção feita com seringa e agulha deve ser evitada por razões de segurança, no entanto, sempre que seringa e agulha forem usadas para coleta de sangue, deve-se usar um dispositivo de transferência (Figura 11b). Trata-se de um adaptador de coleta de sangue a vácuo, com agulha distal acoplada para a transferência do sangue da seringa diretamente para o tubo, sem a necessidade de manuseio do sangue e abertura do tubo (*CLSI H3-A6, Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard, 6th ed.*).

A coleta com seringa e agulha é muito difundida devido ao hábito de manuseio pela maioria dos profissionais de saúde e à disponibilidade, ou seja, seringas e agulhas hipodérmicas, além de terem baixo custo, são materiais essen-

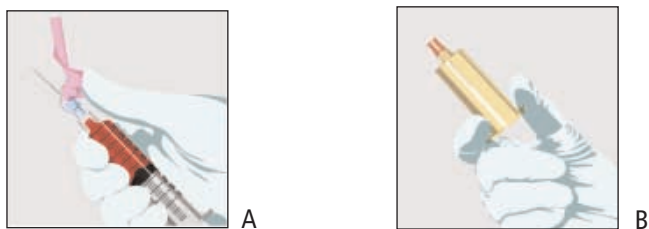


Figura 11: (A) Dispositivo de segurança acoplado; (B) dispositivo de transferência.

ciais para o funcionamento de qualquer serviço de saúde. Ressalte-se que esta opção poderá apresentar impactos em maior escala na qualidade da amostra obtida, bem como nos riscos de acidente com perfurocortantes.

Em função desse sistema de coleta ser aberto, depender de critérios subjetivos para a etapa de transferência do sangue para os tubos (acima ou abaixo da capacidade dos mesmos, causar alteração na proporção correta de sangue/aditivo) e possibilitar ampla formação de microcoágulos, fibrina e hemólise, pode haver comprometimento da qualidade da amostra. Com isso, há várias perdas, as quais podem gerar:

- desperdício ocasionando trabalho dobrado;
- redução da eficiência do serviço, causada pelos atrasos na entrega dos laudos;
- redução da eficácia, devido ao descumprimento de padrões estabelecidos para a qualidade no desempenho;
- não conformidades na produção laboratorial por eventuais danos aos equipamentos (obstruções, entupimentos);
- desgaste da equipe do laboratório (administrativa e técnica);
- ampliação dos custos;
- desarmonia na relação do laboratório com o paciente e com o seu médico-assistente, levando à perda da confiança no serviço.

4.5.4 Dificuldade para a coleta da amostra de sangue

Quando houver dificuldade para a obtenção da amostra de sangue, procedimentos suplementares podem ser necessários:

- trocar a posição da agulha: se a agulha penetrou profundamente na veia, tracione-a um pouco para trás; se não penetrou o suficiente, avance-a até atingir a veia;

- se, durante o ato da coleta, houver suspeita de colapamento da veia punccionada, recomenda-se virar lenta e cuidadosamente a agulha para que o bisel fique desobstruído, permitindo a recomposição da luz da veia e a liberação do fluxo sanguíneo. Realocação lateral da agulha nunca deve ser tentada para se alcançar a veia basílica, devido à sua proximidade com a artéria braquial;
- tentar coletar o material com outro tubo, se o utilizado inicialmente falhar por qualquer defeito (por exemplo, por falta de vácuo);
- não são recomendados os movimentos de busca aleatória da veia; este tipo de movimento pode ser doloroso e pode produzir perfurações arteriais, resultando em: hematoma, compressão do nervo ou lesão direta do nervo;
- não é recomendável que o mesmo flebotomista tente mais de duas vezes uma venopunção. Se possível, outra pessoa deve ser acionada para completar a coleta no paciente ou o médico deve ser notificado.

4.6 Considerações Importantes sobre Hemólise

Hemólise tem sido definida como a “liberação dos constituintes intracelulares para o plasma ou soro”, quando ocorre a ruptura das células do sangue, o que pode interferir nos resultados de alguns analitos. Ela é geralmente reconhecida pela aparência avermelhada do soro ou plasma, após a centrifugação ou sedimentação, causada pela hemoglobina liberada durante a ruptura dos eritrócitos. Desse modo, a interferência pode ocorrer mesmo em baixas concentrações de hemoglobina, invisíveis a olho nu (Figura 12).

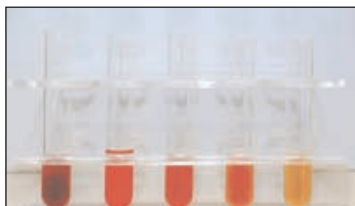


Figura 12: Amostras com diferentes graus de hemólise.

A hemólise nem sempre se refere à ruptura de hemácias, pois fatores interferentes podem também ser originados da lise de plaquetas e granulócitos, que pode ocorrer, por exemplo, quando o sangue é armazenado em baixas temperaturas, e não em temperatura de congelamento.

4.6.1 Boas práticas de pré-coleta para prevenção de hemólise

- Deixar o álcool secar antes de iniciar a punção.
- Evitar usar agulhas de menor calibre. Usar esse tipo de material somente quando a veia do paciente for fina ou em casos especiais.
- Evitar colher o sangue de área com hematoma.
- Em coletas a vácuo, puncionar a veia do paciente com o bisel voltado para cima. Perfure a veia com a agulha a um ângulo oblíquo de inserção de 30 graus ou menos. Assim, evita-se que o sangue se choque com força na parede do tubo, hemolisando a amostra, e previne-se também o refluxo do sangue do tubo para a veia do paciente.
- Tubos com volume de sangue insuficiente ou em excesso alteram a proporção correta de sangue/aditivo, levando à hemólise e a resultados incorretos.
- Em coletas com seringa e agulha, verificar se a agulha está bem adaptada à seringa, para evitar a formação de espuma.
- Não puxar o êmbolo da seringa com muita força.
- Ainda em coletas com seringa, descartar a agulha e passar o sangue deslizando-o cuidadosamente pela parede do tubo, cuidando para que não haja contaminação da extremidade da seringa com o anticoagulante ou com o ativador de coágulo contido no tubo.
- Não executar o procedimento de espetar a agulha na tampa de borracha do tubo para a transferência do sangue da seringa para o tubo, pois poderá criar uma pressão positiva, o que provoca, além da hemólise, o deslocamento da rolha do tubo, levando à quebra da *probe* de equipamentos.

4.6.2 Boas práticas de pós-coleta para prevenção de hemólise

- Homogeneizar a amostra suavemente por inversão de 5 a 10 vezes, de acordo com as instruções do fabricante (ver item 4.6.1); não chacoalhar o tubo.
- Não deixar o sangue em contato direto com gelo, quando o analito a ser dosado necessitar desta conservação.
- Embalar e transportar o material de acordo com as determinações da Vigilância Sanitária local, das instruções de uso do fabricante de tubos e do fabricante do conjunto diagnóstico a ser analisado.
- Usar, de preferência, um tubo primário; evitar a transferência de um tubo para outro.
- Não deixar o sangue armazenado por muito tempo refrigerado antes de fazer os exames. Verificar as recomendações do fabricante do *kit* do teste.

- Não centrifugar a amostra de sangue em tubo para obtenção de soro antes do término da retração do coágulo, pois a formação do coágulo ainda não está completa, o que pode levar à ruptura celular.
- Quando utilizar um tubo primário (com gel separador), a centrifugação e a separação do soro devem ser realizadas dentro de, no mínimo, 30 minutos e, no máximo, 2 horas após a coleta.
- Não usar o freio da centrífuga com o intuito de interromper a centrifugação dos tubos. Essa brusca interrupção pode provocar hemólise.

4.7 Recomendações para os Tempos de Retração do Coágulo

Os tempos recomendados baseiam-se nos processos normais de coagulação (Tabela 3). Os pacientes portadores de coagulopatias ou submetidos à terapia com anticoagulantes requerem um tempo maior para esta etapa da fase pré-analítica.

Tabela 3 - Tempos mínimos de retração de coágulo recomendados antes da centrifugação

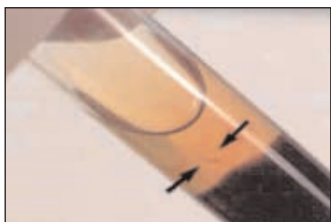
TIPOS (Tubos para obtenção de soro)	TEMPO DE COAGULAÇÃO (minutos)
Sem ativador de coágulo (tampa vermelha*)	60
Com ativador de coágulo (tampa vermelha*)	30
Com gel separador e ativador de coágulo (tampa amarela)	30
Com gel separador e acelerador de coágulo (tampa laranja)	3 a 5

*Cores de tampas dos tubos de coleta a vácuo conforme ISO 6710.2

- Amostras de pacientes com distúrbio na produção de proteínas podem causar má-formação de barreira de gel e as desordens podem causar mudanças na densidade do soro, gerando a permanência do soro abaixo do gel, após a centrifugação e, algumas vezes, a ausência de movimento do gel.
- Nas amostras de soro colhido de pacientes portadores de gamopatia monoclonal, como o mieloma múltiplo, a barreira de gel pode se misturar ao soro e às células. Nessa condição, a imunoglobulina inibe os três estágios da formação de fibrina:
 - a ação proteolítica da trombina sobre o fibrinogênio;
 - a agregação dos monômeros de fibrina;
 - a estabilização da fibrina pela ligação cruzada das cadeias gama e alfa.

Como o gel não se move, haverá, em tese, certa quantidade de soro que deve ser aliquotada imediatamente em um tubo secundário para a análise.

- Soros de pacientes com desordens de coagulação podem requerer mais de 30 minutos para total coagulação da amostra, assim como os de pacientes em tratamento com altas doses de heparina podem não coagular a amostra. Certas doenças do fígado podem também requerer maior tempo para coagulação da amostra. Esses fatos também requerem maior atenção, pois podem acarretar má formação da barreira de gel, caso não seja esperado o tempo de total coagulação da amostra com centrifugação antecipada.
- Sempre que o paciente for submetido a exames de imagem com uso de contrastes, deve-se, primeiramente, executar a coleta de sangue e, na sequência, o exame de imagem.
- Tubos coletados com volume de sangue inferior ao preconizado alteram a relação sangue/ativador de coágulo, resultando na formação de fibrina.
- O intervalo necessário para a retração do coágulo deve ser respeitado antes da centrifugação, visando a evitar a formação de fibrina (Figura 13).
- A relação coagulação/tempo pode variar de um fornecedor para outro, por exemplo: alguns tubos com gel separador podem apresentar acelerador de coágulo capaz de promover tempos reduzidos, aproximadamente 3 a 5 minutos, para total formação de coágulo, aumentando a produtividade e otimizando a rotina laboratorial. O laboratório deve então consultar seu fornecedor sobre as recomendações relativas ao tempo de retração do coágulo.



Tubo contendo fibrina

Figura 13: Amostra com fibrina após centrifugação.

4.8 Centrifugação dos Tubos de Coleta

Recomenda-se que as centrífugas do laboratório sejam submetidas periodicamente à manutenção preventiva, com calibração e verificação das condições metro-lógicas, para garantir seu correto funcionamento. Para tubos de coleta a vácuo, recomenda-se o uso de centrífugas balanceadas de ângulo móvel (tipo *swing-bucket*).

- Utilizar sempre caçambas ou cubetas apropriadas. As caçambas e cubetas da centrífuga devem ser do tamanho específico para os tubos usados. Cubetas muito grandes ou muito pequenas podem causar a quebra ou o deslocamento dos tubos, levando à má separação da amostra.
- Certificar-se de que os tubos estejam corretamente encaixados na caçamba da centrífuga. Um encaixe incompleto pode fazer com que a tampa de proteção do tubo se desprenda, ou que a parte superior do tubo fique fora da caçamba. Tubos de vidro ou plástico acima da caçamba podem chocar-se com a cabeça da centrífuga e quebrar-se.
- Balancear os tubos para minimizar o risco de quebra. Os tubos devem ser agrupados de acordo com o tipo, por exemplo: tubos com o mesmo volume de aspiração, tubos de tamanhos iguais, tubos de vidro com tubos de vidro, tubos com o mesmo tipo de tampa ou rolha de proteção, tubos com gel com outros do mesmo tipo, e tubos de plástico com tubos de plástico.
- Certificar-se de que, ao final do dia, as caçambas e a área de contato da centrífuga sejam desinfetadas com hipoclorito a 1% contribuindo assim com a segurança do próximo usuário.

A força centrífuga relativa (RCF) refere-se à regulação da aceleração da centrífuga (rpm), conforme a seguinte equação:

$$\text{rpm} = \sqrt{\frac{\text{RCF} \times 10^5}{1,12 \times r}}$$

Em que “r”, expressa em cm, corresponde à distância radial do centro do rotor da centrífuga à base do tubo (raio).

A Tabela 4 fornece a velocidade e o tempo de centrifugação recomendados.

Tempo e rotação para centrifugação da amostra

A relação velocidade/tempo pode variar de um fornecedor para outro; por exemplo, alguns tubos com gel separador podem ser centrifugados em tempos reduzidos, aproximadamente 4 a 5 minutos, aumentando a produtividade e otimizando a rotina laboratorial. O laboratório deve consultar seu fornecedor sobre as recomendações de centrifugação.

Os tubos não devem passar por um segundo processo de centrifugação após a formação da barreira. As barreiras têm maior estabilidade quando os tu-

Tabela 4 - Intervalos de centrifugação e força centrífuga relativa estimada para diferentes tipos de tubos

ACELERAÇÃO E TEMPO DE CENTRIFUGAÇÃO*		
TIPO	RCF (g)	TEMPO (min)
Tubo de vidro com gel separador e ativador de coágulo	1.000 a 1.300	10
Tubo de plástico com gel separador e ativador de coágulo	1.300 a 2.000	10
	2.000 a 3.000	4 a 5
Tubo com gel separador e anticoagulante	1.000 a 1.300	10
Tubo sem gel separador	≤ 1.300	10
Tubo contendo citrato**	1.500	15
Tubo com gel separador e com acelerador da coagulação	1.500 a 1.700	10

*Os valores descritos são estimados e variam de acordo com o fabricante. Deve-se sempre consultar as instruções do fabricante.

**Sangue coletado em tubos contendo citrato deve ser centrifugado a uma velocidade e tempo suficientes, para a obtenção de plasma pobre em plaquetas (contagem de plaquetas < 10.000/mL), de acordo com normas do CLSI/NCCLS.

RCF = força centrífuga relativa; g = gravidade

Os tubos são centrifugados em centrífugas horizontais (caçamba de ângulo móvel), não-refrigeradas, do que em centrífugas de ângulo fixo.

Recomenda-se sempre aguardar até que a centrífuga pare completamente, antes de tentar retirar os tubos. Não usar o freio da centrífuga com o intuito de interromper a centrifugação dos tubos; essa brusca interrupção, além de hemólise (veja item 4.6.2), pode deslocar o gel separador.

O plasma e o soro dos tubos sem gel devem ser removidos da camada celular em até 2 horas após a coleta da amostra, conforme documento do CLSI H18-A3 - *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline, 3rd ed. Vol.24 N°38*.

O soro ou plasma separado está pronto para ser usado. Os tubos podem ser colocados diretamente na bandeja (*rack*) do equipamento, ou o soro/plasma pode ser pipetado para uma cubeta do equipamento. Alguns equipamentos aspiram a amostra diretamente do tubo primário. Assim, para a utilização adequada, recomenda-se observar as instruções do fabricante do equipamento. A estabilidade do analito depende de sua viabilidade na amostra, temperatura e tempo a ser analisado. Por isso, recomenda-se consultar as instruções do conjunto diagnóstico para verificar a sensibilidade e a especificidade para a detecção do analito a ser dosado. Recomenda-se também que cada serviço estabeleça sua política de armazenamento de materiais biológicos (Figura 14).



Figura 14: Armazenamento de amostras.

Alguns parâmetros necessitam ser transportados e centrifugados sob refrigeração para a manutenção da estabilidade, tais como: amônia, catecolaminas, paratormônio, ácido láctico, piruvato, ácidos graxos livres, atividade da renina, acetonas e ACTH. Outros necessitam de proteção contra a ação da luz (bilirrubina, beta-caroteno, vitamina B12, ácido fólico).

É importante avaliar o aspecto final da amostra após a centrifugação, particularmente em relação à presença de fibrina, lipemia e hemólise. Na Figura 15, visualizam-se amostras com diferentes graus de lipemia.

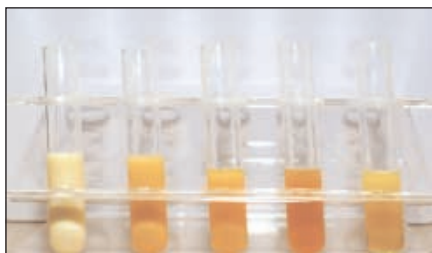


Figura 15: Amostras com diferentes graus de lipemia.

Atenção: *Tubos com gel separador não podem ser centrifugados em baixas temperaturas, uma vez que as propriedades de fluxo do gel relacionam-se com a temperatura. A formação da barreira de gel pode ser comprometida caso o tubo seja resfriado antes ou durante a centrifugação. Para otimizar o fluxo e evitar aquecimento, ajustar as centrifugas refrigeradas a 25°C.*

A Tabela 5 relaciona os raios do braço da centrífuga (em centímetros) com a velocidade necessária para se obter a força “g” adequada.

Tabela 5 - Cálculo do “rpm”, a partir do raio do braço da centrífuga e da força “g”

Tubos com gel separador de 1300 a 2000 g*

rcf = $1,118 \times 10^{-5}$, sendo r: a distância em cm

rcf (g)	RAIO (cm)																			
	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
900	3391	3172	2991	2837	2705	2590	2488	2398	2317	2243	2176	2115	2058	2006	1958	1913	1871	1831	1794	
950	3484	3259	3073	2915	2779	2661	2557	2464	2380	2305	2236	2173	2115	2061	2012	1965	1922	1882	1844	
1000	3575	3344	3153	2991	2852	2730	2623	2528	2442	2364	2294	2229	2170	2115	2064	2016	1972	1931	1892	
1050	3663	3426	3230	3065	2922	2798	2688	2590	2502	2423	2350	2284	2223	2167	2115	2066	2021	1978	1938	
1100	3749	3507	3306	3137	2991	2663	2751	2651	2561	2480	2406	2338	2276	2218	2165	2118	2068	2025	1964	
1150	3833	3586	3381	3207	3058	2926	2813	2711	2619	2536	2460	2391	2327	2268	2213	2162	2115	2070	2028	
1200	3916	3663	3453	3276	3124	2991	2873	2769	2675	2590	2513	2442	2377	2317	2261	2209	2160	2115	2072	
1250	3997	3738	3525	3344	3188	3052	2933	2826	2730	2643	2565	2492	2426	2364	2307	2254	2205	2158	2115	
1300	4076	3812	3594	3410	3251	3113	2991	2882	2794	2696	2615	2542	2474	2411	2353	2299	2248	2201	2157	
1350	4153	3885	3663	3475	3313	3172	3048	2937	2837	2747	2665	2590	2521	2457	2398	2343	2291	2243	2196	
1400	4230	3958	3730	3539	3374	3230	3104	2991	2889	2798	2714	2638	2567	2502	2442	2386	2333	2284	2238	
1500	4378	4095	3861	3663	3492	3344	3213	3096	2991	2896	2809	2730	2657	2590	2528	2470	2415	2364	2317	
1600	4522	4230	3988	3783	3607	3453	3318	3197	3089	2991	2901	2820	2744	2675	2611	2551	2494	2442	2393	
1700	4661	4360	4110	3899	3718	3560	3420	3296	3184	3083	2991	2906	2829	2757	2691	2629	2571	2517	2466	
1800	4796	4486	4230	4013	3826	3663	3519	3391	3276	3172	3077	2991	2911	2837	2769	2705	2646	2590	2538	
1900	4927	4609	4345	4122	3931	3763	3616	3484	3366	3259	3162	3073	2991	2915	2845	2779	2718	2661	2607	
2000	5055	4729	4458	4230	4033	3861	3710	3675	3453	3344	3244	3153	3068	2991	2919	2852	2789	2730	2675	
2100	5160	4646	4568	4334	4132	3956	3601	3663	3539	3426	3324	3230	3144	3065	2991	2912	2656	2796	2741	
2200	5302	4960	4676	4436	4230	4049	3891	3749	3622	3502	3402	3306	3218	3137	3061	2991	2925	2863	2806	
2300	5421	5071	4781	4536	4325	4140	3978	3883	3703	3586	3479	3381	3291	3207	3130	3058	2991	2928	2869	
2400	5538	5180	4884	4633	4418	4230	4064	3916	3783	3663	3554	3453	3361	3276	3197	3124	3055	2991	2930	
2500	5652	5267	4965	4729	4509	4317	4147	3997	3661	3738	3627	3525	3431	3344	3263	3168	3116	3052	2991	
2600	5764	5392	5083	4822	4598	4402	4230	4076	3937	3812	3699	3594	3499	3410	3328	3251	3180	3113	3050	
2700	5874	5494	5180	4914	4686	4486	4310	4153	4013	3885	3769	3663	3565	3475	3391	3313	3240	3172	3108	
2800	5981	5595	5275	5004	4772	4568	4389	4230	4086	3956	3838	3730	3631	3539	3453	3374	3300	3230	3165	
2900	6087	5694	5369	5093	4856	4649	4467	4304	4158	4026	3906	3796	3695	3601	3515	3434	3358	3288	3221	

*Consulte o fornecedor sobre as recomendações de centrifugação.

Como usar a Tabela 5:

Exemplo: Suponha que o fabricante dos produtos para coleta de sangue a vácuo recomende que a centrifugação do tubo seja feita a 1.300 g. Para transformar “g” em “rpm”, devemos medir o raio da centrífuga usada pelo laboratório. O raio é medido em centímetros, usando-se uma régua comum. Essa medida se dá do ponto central da centrífuga de ângulo móvel até o fundo do tubo (base da capa). O valor em “rpm” é o ponto de intersecção das duas medidas (g e raio) na Tabela 5.

Ex. raio da centrífuga = 15 cm

Velocidade de centrifugação = 1.300 g = 2.794 rpm

4.9 Recomendação da Sequência dos Tubos a Vácuo na Coleta de Sangue Venoso de Acordo com o CLSI

Existe uma possibilidade pequena de contaminação com aditivos de um tubo para outro, durante a troca de tubos, no momento da coleta de sangue. Por isso, uma ordem de coleta foi estabelecida pela CLSI.

Essa contaminação numa coleta de sangue venoso pode ocorrer quando:

- na coleta de sangue a vácuo, o sangue do paciente entrar no tubo e se misturar ao ativador de coágulo ou anticoagulante, contaminando a agulha distal (recoberta pela manga de borracha da agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo) quando ela penetrar a rolha do tubo (Figura 16);



Figura 16: Contaminação da agulha no momento da coleta.

- na coleta com seringa e agulha, pelo contato da ponta da seringa com o anticoagulante ou ativador de coágulo na parede do tubo, quando o sangue for colocado dentro do tubo;
- na coleta com seringa e agulha, usar o dispositivo de transferência para tubos a vácuo (Figura 17); onde o sangue que estiver dentro da seringa entra no tubo e se mistura ao ativador de coágulo ou anticoagulante, podendo contaminar a agulha distal (recoberta pela manga de borracha do dispositivo de transferência) quando ela penetrar e perfurar a rolha do tubo (CLSI H3-A6, *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipunctures; Approved Standard, 6thed.*).



Figura 17: Seringa conectada ao dispositivo de transferência e tubo a vácuo.

Em dezembro de 2003, a ordem de coleta da CLSI foi reformulada, contemplando também a coleta em tubos plásticos. Isso ocorreu porque os tubos plás-

ticos para soro (tampa vermelha ou amarela com gel separador) contêm ativador de coágulo em seu interior, o que pode alterar os resultados dos testes de coagulação. Devido a este componente, estes tubos devem ser colhidos depois do tubo para coagulação (tampa azul), como veremos abaixo.

Empregando-se coleta com tubos de vidro: os tubos para soro (tampa vermelha) podem ser colhidos normalmente, antes dos tubos para coagulação (tampa azul), pois não possuem ativador de coágulo.

Estudos demonstram que os resultados do tempo de protrombina (TP), International Normalized Ratio (INR), e o tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA) não sofrem interferência se avaliados no primeiro tubo coletado, sem a necessidade da coleta prévia de um tubo de descarte. Esses estudos não comprovaram a hipótese de que as amostras para os ensaios rotineiros de coagulação deveriam ser obtidas após a coleta do tubo de descarte, para minimizar o efeito da ação da tromboplastina tecidual. Segundo o documento CLSI H21-A5, *Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline – 5th edition*, a evidência acerca da necessidade da coleta prévia de um tubo de descarte para testes de coagulação é circunstancial. Assim, não existem publicações recentes que indiquem ser esta prática absolutamente necessária ou desnecessária, quando se recorre ao sistema de coleta a vácuo.

Ao realizar a coleta com sistema de escalpe, sendo o tubo para testes de coagulação o primeiro a ser coletado, deve-se utilizar o tubo de descarte. O uso do tubo de descarte tem por finalidade preencher o espaço “morto” do escalpe, para garantir a proporção adequada do anticoagulante em relação ao sangue total. Para fins de descarte, utilize um tubo para coagulação ou sem qualquer aditivo.

Ainda, segundo esse documento, alguns serviços utilizam a técnica da “dupla seringa” para a coleta de sangue para hemostasia. Nesse tipo de procedimento, a seringa com a agulha, sem qualquer tipo de aditivo, é utilizada para a obtenção da primeira amostra. Após essa primeira coleta, mantendo a agulha na veia punccionada, retira-se cuidadosamente a seringa e encaixa-se uma segunda, contendo o anticoagulante adequado. O sangue coletado na segunda seringa representa a amostra adequada a ser utilizada para os testes de hemostasia.

Nota: *Nos casos em que a coleta for feita com escalpe e o primeiro tubo a ser colhido for o tubo de citrato ou um tubo de menor volume de aspiração, deve-se, primeiro, colher um tubo de descarte. O tubo de descarte deve ser usado para preencher com sangue o espaço morto do tubo vinílico do escalpe, assegurando a manutenção da proporção sangue/anticoagulante no tubo e também o volume exato de sangue que foi colhido dentro do tubo.*

4.9.1 Sequência de coleta para tubos plásticos de coleta de sangue

1. Frascos para hemocultura.
2. Tubos com citrato (tampa azul-claro).
3. Tubos para soro com ativador de coágulo, com ou sem gel separador (tampa vermelha ou amarela).
4. Tubos com heparina com ou sem gel separador de plasma (tampa verde).
5. Tubos com EDTA (tampa roxa).
6. Tubos com fluoreto (tampa cinza).

4.9.2 Sequência de coleta para tubos de vidro de coleta de sangue

1. Frascos para hemocultura.
2. Tubos para soro vidro-siliconizados (tampa vermelha).
3. Tubos com citrato (tampa azul-claro).
4. Tubos para soro com ativador de coágulo com gel separador (tampa amarela).
5. Tubos com heparina com ou sem gel separador de plasma (tampa verde).
6. Tubos com EDTA (tampa roxa).
7. Tubos com fluoreto (tampa cinza).

4.9.3 Homogeneização para tubos de coleta de sangue

É de extrema importância que, imediatamente após a coleta, todos os tubos sejam homogeneizados, procedimento que deve ser realizado por inversão conforme descrito a seguir (Tabela 6 e Figura 18):

- não se deve homogeneizar tubos de citrato vigorosamente, sob o risco de ativação plaquetária e interferência nos testes de coagulação. Quando se utilizam tubos de citrato para coleta de sangue a vácuo com aspiração parcial, uma falsa trombocitopenia pode ser observada. Este fenômeno pode ocorrer pela ativação plaquetária causada pelo “espaço morto” entre o sangue coletado e a rolha destes tubos;
- a falha na homogeneização adequada do sangue em tubo com anticoagulante precipita a formação de microcoágulos.

4.10 Procedimentos de Coleta de Sangue a Vácuo

1. Verificar se a cabine da coleta está limpa e guarnecida para iniciar as coletas (Figuras 19 e 20).
2. Solicitar ao paciente que diga seu nome completo para confirmação do pedido médico e etiquetas.

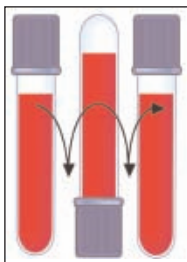


Figura 18: Uma inversão é contada após virar o tubo para baixo e retorná-lo à posição inicial, conforme exemplificado nesta imagem.

Tabela 6 - Quadro representativo do número de inversões dos tubos após a coleta

GRUPO DE ANTICOAGULANTES/ADITIVOS	NÚMERO DE INVERSÕES*
Tubos com Gel Separador	
Tubos com gel ativador de coágulo	5 a 8 vezes
Tubos com gel e heparina	8 a 10 vezes
Tubos com Aditivos	
Tubos siliconizados	Não é necessário homogeneizar
Tubos com Aditivos para Obtenção de Soro	
Partículas ativadoras de coágulo	
Tampa vermelha ou amarela	5 a 8 vezes
Tubos com Sangue Total/plasma	
EDTA K2 ou EDTA K3	8 a 10 vezes
Citrato (coagulação)	5 a 8 vezes
Citrato (VHS)	5 a 8 vezes
Fluoreto de sódio/EDTA Na ₂ (glicose)	8 a 10 vezes
Heparina	8 a 10 vezes
Ácido cítrico, citrato, dextrose (ACD)	8 a 10 vezes
Tubos com Elemento de Traço	
EDTA ou heparina	8 a 10 vezes
Com ativador de coágulo para obtenção de soro	5 a 8 vezes

*O número de inversões pode variar de acordo com o fabricante. Consulte sempre o fornecedor de tubos sobre as recomendações para a homogeneização.

Fonte: CLSI H18 A3 – Procedures for the handling and processing of blood specimens; Approved Guideline – 3rd edition.



Figura 19: Local de coleta de sangue guardado adequadamente.

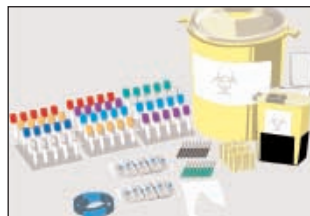


Figura 20: Material de coleta separado adequadamente.

3. Conferir e ordenar todo o material a ser usado no paciente, de acordo com o pedido médico (tubo, gaze, torniquete etc.). Essa identificação dos tubos deve ser feita na frente do paciente.
4. Informar ao paciente como será o procedimento.
5. Abrir o lacre da agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo em frente ao paciente.
6. Rosquear a agulha no adaptador do sistema a vácuo (Figura 21).

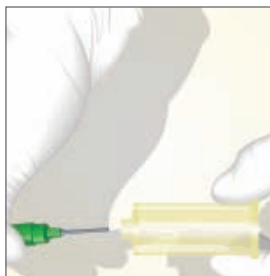


Figura 21

7. Higienizar as mãos (ver item 4.4.1).
8. Calçar as luvas (ver item 4.4.2).
9. Posicionar o braço do paciente, inclinando-o para baixo na altura do ombro (Figura 22).



Figura 22

10. Se o torniquete for usado para seleção preliminar da veia, pedir para que o paciente abra e feche a mão; em seguida, afrouxar o instrumento e esperar 2 minutos para utilizá-lo novamente.
11. Fazer a antisepsia (ver item 4.4.3).
12. Garrotear o braço do paciente (ver item 4.3).
13. Retirar a proteção que recobre a agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo (Figura 23).



Figura 23

14. Fazer a punção numa angulação oblíqua de 30° , com o bisel da agulha voltado para cima (Figura 24). Se necessário, para melhor visualizar a veia, esticar a pele com a outra mão (longe do local onde foi feita a antissepsia).



Figura 24

15. Inserir o primeiro tubo a vácuo (ver item 4.9) (Figura 25).



Figura 25

16. Quando o sangue começar a fluir para dentro do tubo, desgarrotear o braço do paciente e pedir para que abra a mão (Figura 26).

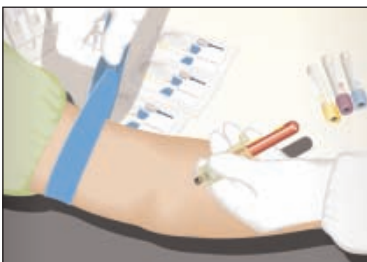


Figura 26

17. Realizar a troca dos tubos sucessivamente (ver item 4.8).
18. Homogeneizar imediatamente após a retirada de cada tubo, invertendo-o suavemente de 5 a 10 vezes (ver item 4.9.3) (Figura 27).



Figura 27

19. Após a retirada do último tubo, remover a agulha e fazer a compressão no local da punção, com algodão ou gaze secos (Figura 28).



Figura 28

20. Exercer pressão no local, em geral, de 1 a 2 minutos, evitando-se, assim, a formação de hematomas e sangramentos (Figura 29). Se o paciente estiver em condições de fazê-lo, orientá-lo adequadamente para que faça a pressão até que o orifício da punção pare de sangrar.



Figura 29

21. Descartar a agulha imediatamente após sua remoção do braço do paciente, em recipiente para materiais perfurocortantes (Figura 30).



Figura 30

22. Fazer curativo oclusivo no local da punção (Figura 31).



Figura 31

23. Orientar o paciente a não dobrar o braço, não carregar peso ou bolsa a tira-colo no mesmo lado da punção por, no mínimo, 1 hora, e não manter a manga dobrada, pois pode funcionar como torniquete.
24. Verificar se há alguma pendência, fornecendo orientações adicionais ao paciente, se for necessário.
25. Certificar-se das condições gerais do paciente, perguntando se está em condições de se locomover sozinho e, em caso afirmativo, entregar o comprovante de retirada do resultado ao paciente para, em seguida, liberá-lo.
26. Colocar as amostras em local adequado ou encaminhá-las imediatamente ao processamento. Deve-se respeitar sempre o procedimento operacional do laboratório; por exemplo, nos casos recomendados, manter em gelo os materiais necessários.
27. Caso esteja usando uma agulha com dispositivo de segurança, seguir as recomendações relativas à ordem de coleta, homogeneização etc. (Figura 32).



1 - Abra a agulha e retire a proteção transparente



4 - Observe que o bisel ficou voltado para cima. Puncione a veia do paciente



2 - Rosqueie a agulha no adaptador



5 - Após a coleta, acione imediatamente o dispositivo de segurança



3 - Levante o dispositivo de segurança e retire a proteção da agulha



6 - Descarte o conjunto em um descartador para perfurocortantes

Figura 32: Recomendações para uso de agulha com dispositivo de segurança.

4.11 Procedimentos de Coleta de Sangue com Seringa e Agulha

1. Verificar se a cabine de coleta está limpa e guarnece para início dos procedimentos (Figuras 33 e 34).



Figura 33: Local de coleta de sangue guarnece adequadamente.

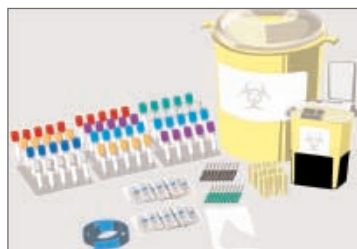


Figura 34: Material de coleta separado adequadamente.

2. Solicitar ao paciente que diga seu nome completo para confirmação do pedido médico e etiquetas.

3. Conferir e ordenar todo o material a ser usado no paciente, de acordo com o pedido médico (tubo, gaze, torniquete, etc.). A identificação dos tubos deve ser feita na frente do paciente.
4. Informar ao paciente como será realizado o procedimento.
5. Abrir a seringa na frente do paciente (Figura 35).



Figura 35

6. Higienizar as mãos (ver item 4.4.1).
7. Calçar as luvas (ver item 4.4.2).
8. Posicionar o braço do paciente, inclinando-o para baixo, na altura do ombro (Figura 36).



Figura 36

9. Se o torniquete for usado para seleção preliminar da veia, pedir para que o paciente abra e feche a mão; em seguida, afrouxar o instrumento e esperar 2 minutos para utilizá-lo novamente.
10. Fazer a antisepsia (ver item 4.4.3).
11. Garrotear o braço do paciente (ver item 4.3).
12. Retirar a proteção da agulha hipodérmica (Figura 37).
13. Fazer a punção numa angulação oblíqua de 30°, com o bisel da agulha voltado para cima, se necessário, para melhor visualizar a veia, esticar a pele com a outra mão, longe do local onde foi feita a antisepsia (Figura 38).
14. Desgarrotear o braço do paciente assim que o sangue começar a fluir dentro da seringa (Figura 39).



Figura 37

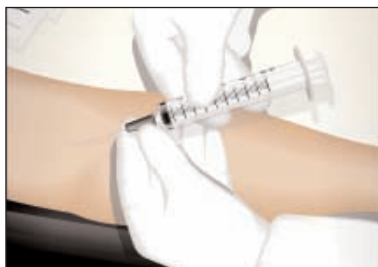


Figura 38

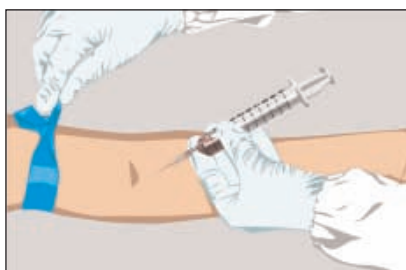


Figura 39

15. Aspirar devagar o volume necessário, de acordo com a quantidade de sangue requerida na etiqueta dos tubos a serem utilizados (respeitar, ao máximo, a exigência da proporção sangue/aditivo). Aspirar o sangue, evitando bolhas e espuma, com agilidade, pois o processo de coagulação do organismo do paciente já foi ativado no momento da punção.
16. Retirar a agulha da veia do paciente (Figura 40).

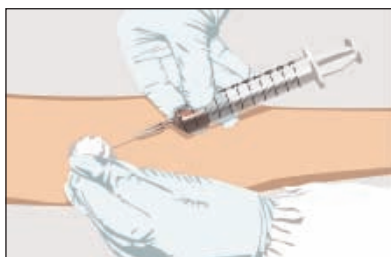


Figura 40

17. Exercer pressão no local, em geral, de 1 a 2 minutos, evitando, assim, a formação de hematomas e sangramentos (Figura 41). Se o paciente estiver em condições de fazê-lo, oriente-o para que faça a pressão até que o orifício da punção pare de sangrar.



Figura 41

18. Tenha cuidado com a agulha para evitar acidentes perfurocortantes.
19. Descartar a agulha imediatamente após sua remoção do braço do paciente, em recipiente adequado, sem a utilização das mãos (de acordo com a normatização nacional – não desconectar a agulha – não reencapar). Caso esteja usando agulha com dispositivo de segurança, ativar o dispositivo e descartar a agulha no descartador para objetos perfurocortantes, de acordo com a NR32 (Figura 42).



A



B

Figura 42 A e B

Atenção: É totalmente contraindicado perfurar a rolha do tubo, pois esse procedimento pode causar a punção acidental, além da possibilidade de hemólise (Figura 43).



A



B

Figura 43 A e B

20. De acordo com o CLSI, deve-se utilizar, após a coleta com seringa e agulha, um dispositivo de transferência de amostra (Figura 44).



Figura 44: (A) Abrindo a embalagem; (B) dispositivo de transferência.

21. Conectar o dispositivo de transferência na seringa, introduzir os tubos a vácuo e aguardar o sangue parar de fluir em direção ao interior do tubo (Figura 45). Realizar a troca dos tubos sucessivamente.

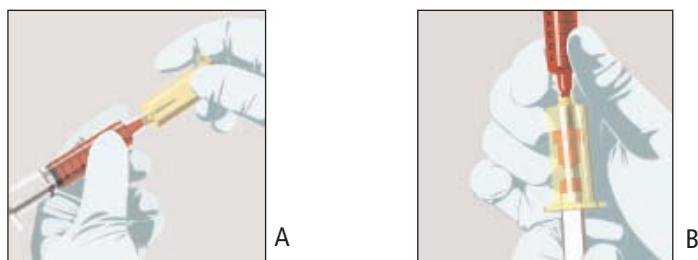


Figura 45: (A) Conectando a seringa; (B) inserindo o tubo no dispositivo de transferência.

22. Homogeneizar o conteúdo imediatamente após a retirada de cada tubo, invertendo-o suavemente de 5 a 10 vezes.
23. Descartar o dispositivo de transferência de amostra (*transfer device*) e a seringa (Figura 46).



Figura 46

24. Fazer curativo oclusivo no local da punção (Figura 47).

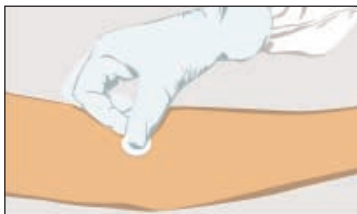


Figura 47

25. Orientar o paciente a não dobrar o braço, não carregar peso ou bolsa a tiracolo no mesmo lado da punção por, no mínimo, 1 hora, e não manter a manga dobrada, pois pode funcionar como torniquete.
26. Verificar se há alguma pendência, dando orientações adicionais ao paciente, se necessário.
27. Certificar-se das condições gerais do paciente perguntando se está em condições de se locomover sozinho. Em caso afirmativo, entregar o comprovante de retirada do resultado ao paciente para, em seguida, liberá-lo.
28. Colocar as amostras em local adequado ou encaminhá-las imediatamente para processamento. Deve-se respeitar sempre o procedimento operacional do laboratório; por exemplo, nos casos indicados manter em gelo os materiais necessários.

4.12 Cuidados para uma Punção Bem-sucedida

O ideal é que a punção seja única, proporcionando, assim, conforto e segurança ao paciente. Para se obter uma punção de sucesso, vários fatores devem ser observados antes de iniciar o procedimento.

Após avaliar o acesso venoso, escolher os materiais compatíveis. Por exemplo, em caso de paciente com acesso venoso difícil, valer-se do uso de agulhas de menor calibre, escalpes ou tubos de menor volume.

- Sempre puncionar a veia do paciente com o bisel voltado para cima.
- Respeitar a proporção sangue/aditivo no tubo.
- Introduzir a agulha mais ou menos 1 cm no braço.
- Respeitar a angulação de 30° (ângulo oblíquo), em relação ao braço do paciente (Figura 48).
- O ângulo oblíquo de 30° da agulha em relação ao braço do paciente foi respeitado (Figura 50); a agulha penetrou centralmente na veia e o bisel da agulha foi inserido voltado para cima.

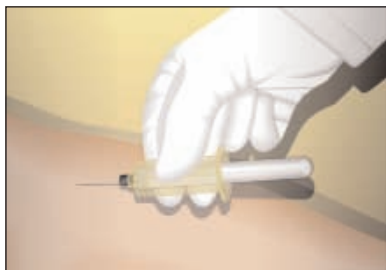


Figura 48: Correta angulação na coleta (30°).



Figura 49: Incorreta angulação na coleta.

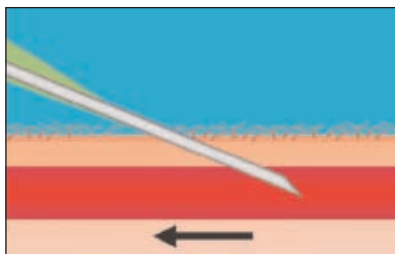


Figura 50: Punção venosa adequada.

- Deve-se tomar cuidado quando o sangue não for obtido logo na primeira punção, para evitar complicações.
- As figuras a seguir exemplificam alguns problemas que podem ocorrer nas situações em que a punção venosa não foi feita adequadamente e apresentam algumas alternativas para resolvê-los.
- O bisel está encostado na parede superior da veia (Figura 51).

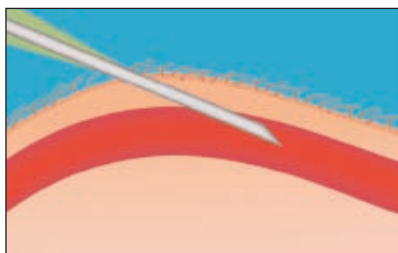


Figura 51: Interrupção do fluxo sanguíneo.

O ideal é inclinar um pouco para cima e avançar um pouco a agulha, permitindo a passagem do fluxo sanguíneo para dentro desta.

Na Figura 52, a parte posterior da agulha está encostada na parede da veia.

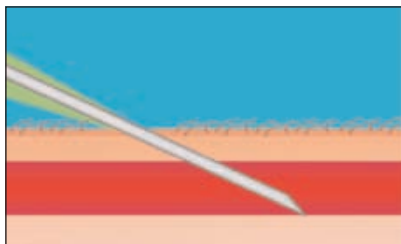


Figura 52: Interrupção do fluxo sanguíneo.

Deve-se, então, retroceder um pouco com a agulha e girar sutilmente o adaptador ou a seringa, permitindo a recomposição do fluxo sanguíneo.

- Veia transfixada pela agulha de coleta (Figura 53).

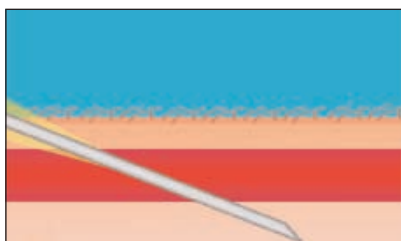


Figura 53: A agulha transfixou a veia.

Neste caso, deve-se retroceder um pouco a agulha, observando a retomada do fluxo.

A Figura 54 apresenta uma penetração parcial na veia.

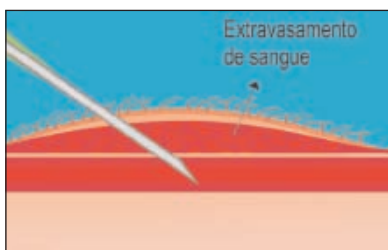


Figura 54: O bisel da agulha penetrou parcialmente a veia do paciente.

É eminente a formação de hematoma nesse caso. Pode-se observar o extravasamento de sangue abaixo da pele. Para evitar que seja feita uma segunda punção, deve-se introduzir um pouco mais a agulha no braço do paciente, tranquilizando-o. Após o término da coleta, fazer compressa com gelo.

- Em caso de colapamento venoso (Figura 55), retirar ou afrouxar o torniquete, para permitir o restabelecimento da circulação. Em seguida, retroceder um pouco a agulha, para permitir que o fluxo sanguíneo desobstrua.

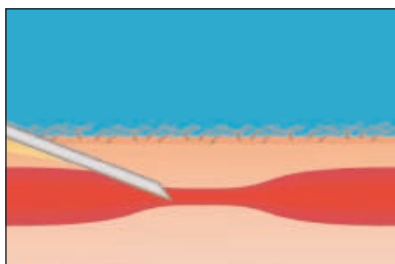


Figura 55: Processo de colapamento venoso.

- Utilizar a marca guia do adaptador de coleta de sangue a vácuo. Ela serve como orientação quando, no meio de uma punção sem fluxo com o tubo já inserido no sistema de coleta a vácuo, o flebotomista necessita desobstruir a veia colapsada retrocedendo um pouco o tubo. O tubo perderá o vácuo, caso este retrocesso seja após a marca guia.
- *Se, durante o ato da coleta, houver suspeita de colapamento da veia punccionada, recomenda-se virar lenta e cuidadosamente o adaptador de coleta de sangue a vácuo para que o bisel seja desobstruído, permitindo a recomposição da luz da veia e liberação do fluxo sanguíneo.*
- *Caso ocorra a perda do vácuo, substituir o tubo.*
- *Evitar movimentos de busca aleatória da veia. Esse procedimento induz a hemólise e resulta na formação de hematoma. Em muitos casos, é aconselhável realizar nova punção em outro sítio.*
- *Punção acidental de artéria: o fluxo arterial é muito mais rápido que o venoso. O sangue arterial tende a uma cor avermelhada, mais “viva”, devido à maior oxigenação da hemoglobina. Ao punccionar acidentalmente uma artéria, recomenda-se retirar rapidamente a agulha e, em seguida, realizar compressão vigorosa no local da punção, até a parada do sangramento. O supervisor necessita ser notificado.*

4.13 Coletas em Condições Particulares

4.13.1 Coleta de sangue via cateter de infusão

A coleta de sangue via cateter de infusão não é recomendada devido aos riscos inerentes a esse procedimento, como contaminações no local da coleta e no cateter, além de aumento considerável do volume a ser colhido.

Além disso, a composição da amostra pode ser profundamente afetada pelos fluidos que foram infundidos, o que pode gerar resultados incorretos nos exames laboratoriais realizados.

A Tabela 7 descreve algumas substâncias afetadas por coletas em cateter de infusão.

Nos casos em que for imprescindível essa forma de coleta, deve-se tomar alguns cuidados, como:

- obter o consentimento do médico assistente;
- o flebotomista deve ser minuciosamente treinado e deve respeitar rigorosamente as normas padronizadas pela instituição;
- comunicar ao laboratório que foi feita uma coleta através de um cateter de infusão e anotar no pedido a substância que está sendo infundida (soro fisiológico, glicose, dextran, medicamentos etc.). Tudo isso porque é possível haver influência do local da coleta sobre a composição do plasma/soro e, consequentemente, sobre o resultado obtido;
- uma quantidade adequada do fluido contido no cateter deve ser desprezada antes que amostras sejam colhidas para testes diagnósticos (Figura 56). O volume a ser desprezado dependerá do volume de espaço morto de cada cateter em particular. É recomendável descartar duas vezes o espaço morto em testes que não sejam para estudos de hemostasia.

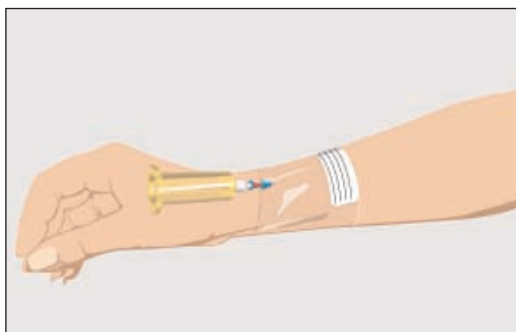


Figura 56: Ilustração de coleta de sangue a vácuo em acesso de cateter.

Deve-se planejar a hora da coleta de acordo com cada tipo de infusão, conforme a Tabela 8.

Tabela 7 - Infusões/transfusões como fator de interferência e/ou contaminação em parâmetros laboratoriais

Infusão/transusão	Parâmetros afetados	Tendência	Comentário, mecanismo
Dextrana	Tempo de coagulação, resposta do fator von Willebrand	↓ ↓	5 a 10 segundos, retardo
	Proteína sérica total, plasma	↑	Biureto, método dependente (turvação, floculação, coloração esverdeada)
	Ureia, soro	↓	
	Grupo sanguíneo		Pseudoaglutinação
Gamaglobulina	Sorologia		Falso-positivo
Eletrólitos	Potássio, sódio, magnésio	↑	Contaminação
Glicose	Glicose	↑	Contaminação
Glicose	Fosfato inorgânico, potássio	↓	Insulina
	Amilase, bilirrubina	↓	Acima de 15%, especialmente em recém-nascidos
Frutose	Ácido úrico	↑	Efeito metabólico
Citrato (transusão sanguínea)	pH do sangue	↓	Inibição
	Teste de coagulação	↑↓	
Soro fisiológico 0,9%	Íons	↑	Contaminação
	Hemodiluição	↓	

Fonte: adaptado de Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Samples: from the patient to the laboratory. 2nd ed. Darmstadt: Git Verlag, 2001.

Tabela 8 - Recomendações para planejar as infusões e as amostragens de sangue

Infusão	Início da coleta de sangue em horas, depois da sessão de infusão
Emulsão de gordura	8
Solução rica em carboidrato	1
Aminoácidos e proteínas hidrolisadas	1
Eletrólitos	1

Fonte: adaptado de Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Samples: from the patient to the laboratory. 2nd ed. Darmstadt: Git Verlag, 2001.

4.13.2 Coleta de sangue via cateter de infusão com heparina

Uma consideração importante deve ser feita sobre a coleta de sangue para testes de coagulação: um cateter preservado com heparina deve ser utilizado devido à importante interferência nos resultados dos exames que este tipo de coleta pode reproduzir. Por essa razão, sempre que possível, esse tipo de coleta deve ser evitado.

Caso não seja possível evitar, é recomendado descartar 5,0 mL de sangue, ou seis vezes o volume do cateter, antes da coleta. O primeiro sangue coletado após esse procedimento deve ser usado para análise de parâmetros não relacionados à hemostasia (em tubo para soro), e o sangue subsequente, obtido em tubo de citrato, usado apenas para determinar substâncias insensíveis à heparina: TP, fibrinogênio segundo Clauss, AT III, monômero de fibrina. Para métodos heparino-dependentes (tempo de coagulação, TTP), deve ser colhido um segundo tubo de citrato. É importante que haja rapidez na coleta do cateter, para evitar coagulação.

Em qualquer situação, sempre é bom lembrar-se de que:

- uma possível contaminação com heparina deve ser sempre considerada nos casos de exames da coagulação; atenção ao tempo de tromboplastina parcial ativada e ao tempo de coagulação, que são extremamente sensíveis à interferência pela heparina;
- as hemoculturas não devem ser colhidas via cateter, pois os organismos que colonizam as paredes do cateter podem contaminar a amostra.

Passo-a-passo para coleta por cateter de infusão

Ao iniciar o procedimento de coleta de cateter com infusão intravenosa:

- tomar todo o cuidado para assegurar que o fluxo de infusão foi completamente descontinuado;
- fazer assepsia rigorosa;
- enxaguar a cânula com solução salina isotônica com volume proporcional ao tamanho do cateter. Os primeiros 5,0 mL de sangue devem ser descartados antes que a amostra de sangue seja coletada (ver coleta com infusão de heparina para testes de coagulação);
- certificar-se de que este procedimento é feito somente por pessoal capacitado e, de preferência, em ambiente hospitalar, com prévio consentimento do médico-assistente;
- conectar o adaptador de coleta a vácuo ou a seringa ao cateter e proceder a coleta;

- retirar o adaptador ou a seringa e fazer a assepsia do cateter;
- procedimentos para reinício de infusão no paciente devem ser realizados por profissional habilitado;
- documentar em qual braço, a região e onde foi feita a coleta, proximal ou distal ao local de infusão.



Coleta de sangue em outros tipos de acessos

4.13.3 Fístula arteriovenosa

Fístula é uma conexão de desvio artificial feita por um procedimento cirúrgico para fundir uma veia com uma artéria. É somente usada para diálise.

Não se recomenda coletar sangue de um braço com fístula. Quando possível, as amostras devem ser coletadas do braço oposto. Além disso, é importante tomar todo o cuidado ao manipular uma fístula, pois é um acesso permanente.

4.13.4 Fluidos intravenosos

Uma coleta capilar é recomendada quando o acesso venoso não está prontamente disponível.

Quando um fluido intravenoso (incluindo transfusão de sangue) é administrado ao paciente, não se recomenda colher sangue no braço utilizado, pois os resultados dos testes laboratoriais poderão ser errôneos.

O hospital deve estabelecer uma política institucional para esses tipos de coleta.

4.14 Hemocultura

Para a realização de hemocultura, faz-se a coleta e a transferência de sangue para as garrafas de hemocultura, que contêm meios de cultura próprios para o crescimento de micro-organismos. A qualidade da coleta de sangue é fator limitante, tanto para a positividade quanto para a agilidade dos resultados.

Momento adequado para coleta de hemocultura

Até hoje, poucos estudos foram realizados tentando estabelecer o momento ideal para coleta de hemocultura. Dados experimentais mostram que, geralmente, as bactérias caem na corrente sanguínea em torno de 1 hora antes do desenvolvimento de calafrios e febre.

Embora seja uma prática comum obter hemoculturas em intervalos de 30 a 60 minutos, existem estudos mostrando que não há diferenças significativas quando as amostras são coletadas simultaneamente ou em intervalos de tempo. Por outro lado, há um estudo mostrando que não há diferença significativa na positividade das hemoculturas coletadas em pico febril (Strand, 1988; Li et al., 1994; Thompson et al., 1991).

Atualmente, a recomendação do CLSI é obter as amostras simultaneamente (sem intervalos de tempo). A coleta de amostras em intervalos de tempo está indicada somente em caso de necessidade de documentar bacteriemia contínua, em pacientes com suspeita de endocardite ou outro tipo de infecção associada a dispositivos intravasculares.

Número de hemoculturas a ser coletado

Há vários estudos publicados indicando o número ideal de hemoculturas a serem coletadas para detecção de bacteriemia e/ou fungemia. O primeiro estudo, publicado em 1975 por Washington, mostrou que 80% dos micro-organismos eram recuperados com uma hemocultura, 88% com duas e 99% com três. Em 1983, Weinstein et al. publicaram um estudo em que a recuperação cumulativa de micro-organismos era de 91% na primeira hemocultura e 99% na segunda. Em ambos os estudos, as hemoculturas foram realizadas por métodos manuais.

Em 2004, Cockerill et al. realizaram um estudo similar, porém, utilizando sistema automatizado. Nesse estudo, a recuperação cumulativa de patógenos de 3 hemoculturas, com amostras de 20 mL cada (excluindo pacientes com endocardite), foi de 65% para a primeira amostra, 80% para a segunda e 96% para a terceira. Em pacientes com endocardite, a recuperação foi de 90% na primeira amostra.

Segundo recomendações do CLSI, devem ser coletados 2 a 3 pares de hemocultura por episódio. O mesmo manual enfatiza que **nunca** deve ser coleta-

da apenas uma hemocultura de pacientes adultos, pois tal prática resulta em volume inadequado de sangue cultivado, além disso, os resultados de uma única hemocultura são mais difíceis de interpretar.

Volume de sangue a ser coletado

Assim como o número de hemoculturas coletadas, o volume de sangue coletado é uma variável **muito importante** na detecção de bacteriemia e/ou fungemia. Para pacientes adultos, a quantidade de patógenos recuperada aumenta proporcionalmente ao volume de sangue coletado. Portanto, em adultos, recomenda-se a coleta de 20 a 30 mL por amostra.

Para crianças, como há poucos trabalhos publicados com relação ao volume de amostra e também como há dificuldades na coleta dessas amostras, recomenda-se coletar não mais do que 1% do volume total de sangue (calculado pelo peso da criança) (CLSI, 2007).

Tipo de garrafa a ser coletada

Os dados de estudos sobre coleta de sangue somente em garrafas aeróbias ou coleta no par aeróbio/anaeróbio são inconclusivos e conflitantes (Rilley et al., 2003; Kellog et al., 1995; Bartlett et al., 2000). Atualmente, a recomendação atual do CLSI é coletar o par de garrafas aeróbio/anaeróbio.

Quando um volume de sangue inferior ao recomendado for coletado, o sangue deve ser inoculado primeiro na garrafa aeróbia e o restante do volume deve ser inoculado na garrafa anaeróbia. Realizar, desse modo, a inoculação das garrafas é importante porque a maioria das infecções é causada por micro-organismos aeróbios ou facultativos, que são mais bem recuperados nas garrafas aeróbias.

Outra recomendação do CLSI é que, para laboratórios que optarem por colher apenas garrafas aeróbias, sejam coletadas duas garrafas aeróbias por amostra, para garantir o cultivo do volume de sangue adequado.

Transporte das amostras

Após a coleta, as amostras devem ser transportadas ao laboratório em, no máximo, duas horas, pois atrasos no início da incubação dos frascos podem atrasar ou mesmo impedir o crescimento de micro-organismos (se as amostras forem incubadas a 35 a 37°C antes de serem introduzidas no equipamento). As garrafas de hemoculturas jamais devem ser refrigeradas ou congeladas, pois baixas temperaturas podem inviabilizar alguns micro-organismos; o ideal é transportar as amostras à temperatura ambiente (CLSI, 2007).

Fatores críticos na recuperação de micro-organismos a partir de amostras de sangue

O volume adequado de sangue é a variável mais importante na recuperação de micro-organismos a partir de amostras de sangue. Isso ocorre devido ao baixo número de unidades formadoras de colônia por mL de sangue de um adulto.

Pacientes pediátricos geralmente apresentam número maior de micro-organismos em seu sangue, assim, resultados satisfatórios são obtidos com volumes menores de sangue. Entretanto, pode ocorrer bacteriemia com baixos níveis de micro-organismos em crianças. Neste caso, o volume de sangue a ser coletado é baseado no volume total de sangue e na idade da criança. Os laboratórios devem sempre seguir as recomendações dos fabricantes e coletar os volumes recomendados para o sistema em uso.

Há estudos mostrando que, frequentemente, os laboratórios recebem volumes de sangue inferiores aos recomendados, essas amostras devem ser processadas normalmente e uma observação deve ser colocada no laudo do paciente, informando que a quantidade de sangue coletada foi inferior à quantidade ideal. Monitorar o volume de sangue coletado e prover tais informações à equipe deve fazer parte do programa de gestão da qualidade para melhorar os cuidados aos pacientes e otimizar a utilização de recursos (CLSI, 2007).

A proporção volume de sangue/meio de cultura é outro fator importante na recuperação de micro-organismos a partir de amostras de sangue. O sangue humano contém substâncias que impedem o crescimento microbiano, tais como: complemento, lisozima, fagócitos, anticorpos e agentes antimicrobianos – no caso de pacientes recebendo tratamento com tais drogas antes da coleta da hemocultura. Para reduzir a concentração desses fatores inibitórios, o sangue deve ser diluído no meio de cultura, numa proporção de 1:5 a 1:10. Alguns meios de cultivo comerciais usam uma taxa inferior a 1:5, o que é aceitável, pois, nesses meios, são adicionadas substâncias que se ligam e inativam as substâncias inibitórias presentes no sangue.

Outro fator importante é agitação. Há estudos indicando que frascos agitados, especialmente nas primeiras 24 horas de incubação, aumentam a velocidade de recuperação de micro-organismos. Provavelmente, isso ocorre devido à maior oxigenação do meio de cultura. No entanto, a agitação não afeta adversamente a recuperação de micro-organismos anaeróbios.

Hemocultura para fungos

O aumento na incidência de infecções com fungemia documentado deve-se às melhorias nas técnicas de cultura e, também, aos avanços dos tratamentos

médicos. Fungemia por leveduras é bem documentada em pacientes: com injúrias traumáticas ou ulcerações na mucosa gastrointestinal; sob terapia antimicrobiana de amplo espectro; sob hiperalimentação, com acessos intravasculares; pacientes com doenças imunossupressoras.

Atualmente, há um aumento na recuperação de fungos dimórficos (por exemplo: *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides*) e filamentosos (*Fusarium*, *Scedosporium*) em hemoculturas de pacientes com SIDA, neoplasias hematológicas, transplantados (medula óssea e órgãos sólidos) e outras imunodeficiências. Embora infecções por *Aspergillus* e *Zygomycetes* sejam comum em pacientes com imunodeficiências severas, a documentação de fungemia nesses pacientes não é frequente.

As leveduras mais comumente isoladas no sangue incluem: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Cryptococcus neoformans*. Outras espécies de *Candida* (*C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. guilhermondii*), *Malassezia furfur*, *Rodhotorulla* spp e *Trichosporon* spp são isoladas com menor frequência.

Dentre os fungos dimórficos, *Histoplasma capsulatum* é o mais frequentemente isolado. *Fusarium* e *Scedosporium* são os fungos filamentosos mais comumente isolados, sendo *Exophiala*, *Rhinocladiella* e *Aspergillus* pouco recuperados.

Hemocultura para micobactérias

A incidência de hemoculturas positivas para micobactérias era um evento relativamente incomum antes do advento da epidemia de síndrome da imunodeficiência adquirida. Micobacteremia também é documentada em pacientes com outras doenças imunossupressoras (por exemplo: leucemia, síndrome da imunodeficiência severa combinada, mieloma múltiplo e outros tumores sólidos), pacientes sob elevadas doses de esteroides ou quimioterapia citotóxica e pacientes com acessos intravasculares de longa permanência.

Micobacteremia por *Mycobacterium tuberculosis* documentada em laboratório é relativamente incomum em países desenvolvidos. No entanto, em países em desenvolvimento, a recuperação desse micro-organismo a partir de hemoculturas de pacientes imunocomprometidos é fato comum. Em contrapartida, o complexo *Mycobacterium avium* (MAC) é mais comumente isolado nessa população de pacientes, embora ultimamente a incidência de micobacteriemia venha diminuindo.

Outras micobactérias de crescimento lento, como *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium simiae*, *Mycobacterium xenopi* e *Mycobacterium genavense*, tem sido recuperadas de pacientes imunocomprometidos com doença disseminada.

Bacteriemia por micobactérias de crescimento rápido (*M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. mucogenicum*) é mais comumente associada à contaminação de cateteres intravasculares de longa permanência e próteses.

Hemoculturas pediátricas

Devido às infecções por anaeróbios serem raras em pacientes pediátricos, alguns pesquisadores têm recomendado apenas o uso de frascos aeróbios. Frascos anaeróbios devem ser considerados apenas em grupos de alto risco, que incluem: neonatos de mães que tiveram ruptura prolongada das membranas durante o parto ou corioamnionite materna; infecção crônica de sinus ou oral; celulite (especialmente perianal e sacral); sinais e sintomas abdominais; ferimentos por mordedura; flebite séptica e pacientes neutropênicos recebendo esteroides.

Na coleta de amostras, os mesmos métodos usados para antisepsia da pele de adultos se aplicam aos pacientes pediátricos, com exceção de recém-nascidos com potencial para desenvolver hipotireoidismo subclínico devido ao iodo. Para todos os pacientes, o iodo deve ser completamente removido após a flebotomia.

Gluconato de clorexidina é aprovado como antisséptico tópico para crianças com idade de 2 meses ou mais. Já para aquelas com idade inferior a 2 meses, recomenda-se o uso de álcool isopropílico a 70%. Por fim, assim como para adultos, o sangue colhido de pacientes infantis coletado via cateter intravenoso deve ser acompanhado de amostra periférica.

As hemoculturas pediátricas diferem das hemoculturas de pacientes adultos primariamente no volume de sangue coletado. Para adultos, há diversos estudos indicando volume de sangue, proporção sangue/meio de cultura, número e intervalo entre as coletas de hemocultura. Para pacientes pediátricos praticamente não existem tais estudos. Deve-se, então, tomar muito cuidado ao extrapolar os dados de estudos em adultos para crianças.

É prática comum em pediatria a coleta de menor volume de sangue, em função do menor volume sanguíneo total, do maior nível de dificuldade para flebotomia e, principalmente, pelo maior risco para eventual necessidade de transfusões decorrente do elevado volume de sangue coletado para realização de exames laboratoriais. Habitualmente, há quantidades maiores de bactérias no sangue de pacientes pediátricos com bacteriemia.

Enquanto muitas infecções pediátricas são caracterizadas por um elevado número de micro-organismos no sangue, um pequeno, porém significativo, número de infecções apresenta baixas quantidades de micro-organismos. Quanto maior o volume da amostra, maior a chance de recuperação de micro-organismos, porém, menor o tempo de detecção.

Atenção: *Para crianças pequenas e bebês, o volume de sangue coletado não deve exceder 1% do volume total de sangue do paciente.*

Infecções relacionadas a cateteres

As infecções associadas ao uso de cateteres são muito comuns. Estima-se que ocorram mais de 250.000 casos de infecção de corrente sanguínea associada a cateter nos Estados Unidos, com índice de mortalidade entre 12 e 35%.

Os fatores de risco para infecção de corrente sanguínea associados a cateteres incluem: tipo de cateteres (cateteres venoso central de longa duração, não tunelado, cateter venoso central de curta duração, tunelado, cateter periférico), duração da colocação do cateter e sítio de inserção. Apesar de serem frequentes, essas infecções são difíceis de serem diagnosticadas. Clinicamente, pode haver ausência de sinais inflamatórios no local de saída do cateter e presença de sinais e sintomas inespecíficos, sugestivos de sepse.

A documentação laboratorial dessas infecções também é problemática, devido à falta de padrão-ouro para o diagnóstico laboratorial.

Há alguns métodos para o diagnóstico dessas infecções, como: culturas semiquantitativas e quantitativas de segmento do cateter; coleta de hemocultura pareada de cateter e sangue periférico; diferença do tempo de positividade entre a hemocultura coletada do cateter e periférica; entre outros.

Em 1997 foi publicada uma metanálise sobre os vários métodos utilizados e, embora o estudo não tenha conseguido mostrar conclusivamente qual o melhor método para diagnóstico, foi demonstrado que a cultura quantitativa foi o método mais acurado para ponta de cateter (Siegmán-Igra et al., 1997).

No entanto, métodos baseados na cultura da ponta do cateter requerem a remoção ou troca do cateter e não devem ser realizados na ausência de hemocultura periférica simultânea.

Para evitar remoção desnecessária de cateter venoso central, é importante a utilização de métodos que permitam o diagnóstico com o cateter implantado. Além disso, é importante distinguir uma infecção de corrente sanguínea associada a cateter de contaminação da pele, colonização do cateter ou outra fonte de infecção que não relacionado ao uso do cateter.

Recomendações para cateteres periféricos de curta duração

- Coletar dois pares de hemoculturas por punção venosa.
- Remover o cateter de modo asséptico.
- Enviar para cultura pelo método de Maki (semiquantitativo). Com cateter periférico de curta duração, é comum a colonização da superfície externa, levando à infecção.

Interpretação dos resultados da cultura:

- um ou mais dos pares de hemocultura e a cultura da ponta de cateter são positivos (crescimento de > 15 UFC) para o mesmo micro-organismo: sugestivo de infecção de corrente sanguínea associada a cateter ou *catheter-related bloodstream infection* (CRBSI);
- um ou mais dos pares de hemocultura é positivo e a ponta de cateter, negativa: inconclusivo para CRBSI; no entanto, pode ser sugestivo de CRBSI, se for isolado *Staphylococcus aureus* ou *Candida* spp. sem nenhuma outra fonte de infecção detectável;
- ambos os pares de hemocultura são negativos e a ponta de cateter positiva (independentemente do número de colônias): sugestivo de colonização, não de CRBSI;
- ambos os pares de hemocultura são negativos e a ponta de cateter também é negativa: improvável CRBSI.

Recomendações para cateter venoso central tunelado e não-tunelado e porta de acesso venoso (VAP)

1. Coletar pelo menos dois pares de hemocultura, com pelo menos um dos pares sendo de coleta por punção venosa (indicar nos frascos). O outro par deve ser coletado de forma asséptica do *hub* do cateter ou através do septo do VAP. Essas coletas devem ser realizadas sem intervalos de tempo.

Interpretação dos resultados:

- em ambos os pares foi recuperado o mesmo micro-organismo (conforme determinado por identificação e teste de sensibilidade): sugestivo de CRBSI, na ausência de outro foco de infecção;
- ambos são positivos e o par coletado do cateter é positivo em tempo menor ou igual a 2 horas: sugestivo de CRBSI, na ausência de qualquer outra fonte de infecção. (Se o tempo de positividade for superior a 120 minutos, é possível que haja CRBSI, isso se os 2 pares forem positivos para o mesmo micro-organismo com perfil de sensibilidade idêntico.);
- ambos são positivos e o par coletado via cateter apresenta um número de UFC/mL cinco vezes maior do que o par da coleta periférica: sugestivo de CRBSI, na ausência de outro foco de infecção. Esse método requer o uso de hemocultura manual quantitativa;

- somente o par de hemocultura coletado via cateter é positivo: resultado interpretado como inconclusivo para CRBSI, sugerindo colonização ou contaminação do cateter durante o procedimento de coleta;
- somente o par coletado via punção periférica é positivo: inconclusivo para CRBSI; no entanto, pode ser sugestivo de CRBSI, se for isolado *Staphylococcus aureus* ou *Candida* spp. sem nenhuma outra fonte de infecção detectável. Para documentar essa CRBSI, deve-se fazer cultura quantitativa ou semiquantitativa da ponta do cateter e isolar o mesmo micro-organismo, ou então, obter hemoculturas adicionais positivas para o mesmo micro-organismo, na ausência de outra fonte de infecção;
- ambos são negativos: CRBSI improvável.

ou

2. Obter dois pares de hemoculturas de forma asséptica, por punção venosa. Remover o cateter suspeito e cortar, de forma asséptica, 5 cm da porção distal do cateter. Submeter a cultura ao método de Maki ou à cultura quantitativa por sonicação ou vórtex.

Interpretação dos resultados:

- um ou mais dos pares de hemocultura e a cultura da ponta de cateter são positivos para o mesmo micro-organismo: provável CRBSI;
- um ou mais dos pares de hemocultura é positivo e a cultura da ponta de cateter é negativa: esse achado pode representar uma CRBSI, se for isolado *S. aureus* ou *Candida* spp., na ausência de outra fonte de infecção. Para documentar essa CRBSI, deve-se obter hemoculturas positivas adicionais, para o mesmo micro-organismo, na ausência de outra fonte de infecção;
- as hemoculturas são negativas e a ponta de cateter é positiva: sugestivo de colonização do cateter;
- as hemoculturas e a ponta de cateter negativas: CRBSI improvável.

O primeiro método pode ser mais apropriado nas circunstâncias em que se deseja manter o cateter no paciente. Se a decisão for remover o cateter, o segundo método é mais adequado.

Considerações especiais

Endocardite infecciosa

O resultado da hemocultura é crítico para o diagnóstico e manejo de um paciente com endocardite infecciosa; portanto, é imperativo que sejam utilizados procedimentos ótimos. Se técnicas ótimas para cultura forem utilizadas, serão obtidas hemoculturas positivas em mais de 90% dos casos.

Existem algumas recomendações que se aplicam especificamente para o diagnóstico de endocardite infecciosa.

- a) Quando obter as culturas: a primeira questão a ser observada na avaliação de um paciente com suspeita de endocardite infecciosa é determinar o momento de obtenção das culturas. Como essa condição apresenta bacteriemia contínua, o intervalo entre as coletas não tem muita importância.
- b) Endocardite infecciosa aguda: em casos de suspeita de endocardite por patógenos altamente virulentos como *Staphylococcus aureus*, deve-se coletar hemoculturas imediatamente, para evitar atrasos no início do tratamento. A recomendação é coletar as hemoculturas dentro de um período de 30 minutos antes da administração de terapia antimicrobiana empírica.
- c) Endocardite infecciosa sub-aguda: não há necessidade de coleta urgente de hemocultura antes do início da terapia empírica. Para essas infecções, é muito mais importante tentar estabelecer o diagnóstico microbiológico. Nesse caso, recomenda-se obter as hemoculturas em intervalos de 30 minutos a 1 hora. Tal procedimento pode ajudar a documentar bacteriemia contínua, que pode ser de grande valor clínico, especialmente quando o ecocardiograma for negativo ou equivocado.

Na coleta, é fundamental que seja feita antissepsia adequada da pele e sejam obtidas culturas de punções venosas de sítios diferentes. Não coletar sangue do cateter para hemocultura.

O número ideal de coletas pode variar, porém, coletar apenas um par é procedimento inadequado; coletar múltiplos pares de hemocultura auxiliará na diferenciação entre falso-positivos, devido à contaminação da pele de positivos verdadeiros. Outra razão para se coletar diversos pares de hemocultura é o volume de sangue: quanto maior, mais chances de isolar o micro-organismo. A recomendação do CLSI é obter inicialmente três pares de hemocultura de pacientes com suspeita de endocardite infecciosa. Se esses pares estiverem negativos em 24 horas, coletar mais dois pares de hemocultura.

Procedimento para coleta de hemoculturas

Antissepsia

A maioria das amostras obtidas para hemocultura é coletada por punção venosa e, para minimizar o risco de contaminação com a microbiota da pele, é necessário realizar antissepsia do local de punção. Vários antissépticos têm sido usados clinicamente há muitos anos, incluindo álcool 70%, tintura de iodo, povidine e clorexidina. Porém, estudos mostram que tintura de iodo e clorexidina possuem atividade antisséptica superior aos demais.

Em geral, preparações contendo tintura de iodo ou clorexidina requerem um tempo para agir, usualmente 30 segundos. Já a clorexidina possui a vantagem de não estar associada a reações alérgicas e não requerer remoção da pele após a punção venosa, sendo recomendada como antisséptico para crianças (desde que com mais de 2 meses de idade) e adultos.

As amostras de sangue para hemocultura devem ser coletadas seguindo-se as precauções do padrão de biossegurança; o sangue deve ser coletado por punção venosa (Aronson et al., 1987; Weinstein et al., 1996; Reller et al., 1982); já a coleta de sangue arterial não é recomendada (Reller et al., 1982).

Hemoculturas obtidas por catéteres intravasculares são associadas com taxas de contaminação mais elevadas do que as amostras obtidas por punção venosa. Em algumas situações, existe a necessidade de coleta de hemocultura pelo cateter e, nesses casos, deve ser feita coleta pareada (cateter e punção venosa).

Se as hemoculturas para bactérias ou fungos forem coletadas por cateter intravenoso, não é necessário descartar o volume inicial de sangue ou lavar com salina para eliminar resíduos de heparina ou outros anticoagulantes, pois a atividade antimicrobiana da heparina é eliminada de forma efetiva em meios de cultura ricos em proteína (CLSI, 2007).

Passo-a-passo para coleta fechada de hemocultura

A coleta fechada de hemocultura, utilizando-se escalpe e adaptador para coleta de sangue a vácuo, torna esse procedimento mais seguro, diminuindo os riscos de acidente com perfurocortantes.

Protocolo para coleta fechada de hemocultura

Precauções universais devem ser seguidas no manuseio de todos os itens contaminados com sangue ou outros fluidos corpóreos.

Antes da coleta da hemocultura

- Inspeccionar todas as garrafas e descartar aquelas que apresentarem evidência de contaminação, danos ou deterioração.

Preparar o sítio de punção

- Realizar a antisepsia adequada (álcool 70% seguido de PVPI, clorexidina ou outra etapa com álcool 70% em pacientes alérgicos), com movimentos circulares, do centro para a periferia.
- Esperar secar naturalmente.
- Não tocar a área.
- Não apalpar.
- Não esfregar.
- Não assoprar.

Preparar as garrafas

- Remover as tampas das garrafas.
- Limpar as tampas de borracha das garrafas com álcool 70% e permitir a secagem natural (Figura 57).
- Marcar na etiqueta o nível de preenchimento de sangue (Figura 58).

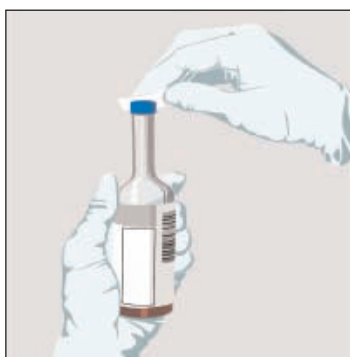


Figura 57



Figura 58

Coletar o sangue

- Preparar o *kit* de coleta de sangue (Figura 59).
- Abrir a embalagem e remover o escalpe.
- Rosquear o escalpe no adaptador.

- Assegurar-se de que todos os ajustes estão seguros.
- Remover o plástico que cobre a agulha.

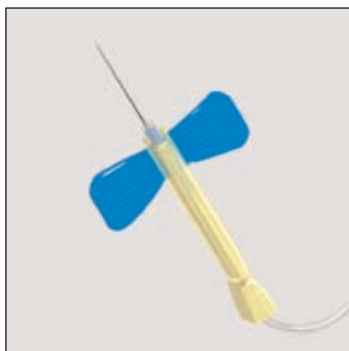


Figura 59

- Realizar a punção segurando as abas do escalpe (Figura 60).

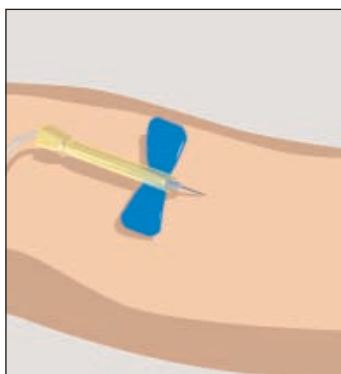


Figura 60

- Selecionar a garrafa aeróbia em primeiro lugar.
- Manter a garrafa na posição vertical.
- Ajustar e pressionar o adaptador sobre a tampa de borracha da garrafa para perfurá-la (Figura 61).
- Coletar o volume necessário de sangue.
- Monitorar o volume e o fluxo de sangue.

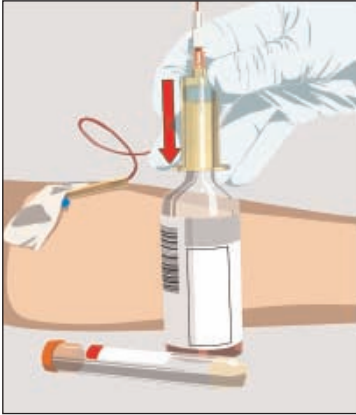


Figura 61

- Remover o adaptador da garrafa.
- Imediatamente ajustar e pressionar o adaptador na segunda garrafa.
- Coletar o volume de sangue desejado na segunda garrafa.
- Remover o adaptador da garrafa.
- Assim que o último frasco ou tubo for preenchido, retirar a agulha do braço do paciente.
- Cobrir o sítio da punção com gaze e pressionar levemente.
- Ativar o dispositivo de segurança do escalpe (Figura 62).

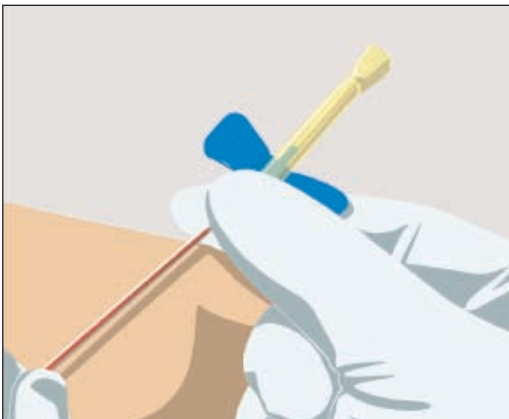


Figura 62

Identificação dos frascos

- Identificar todas as garrafas com as informações do paciente (Figura 63).
- Não escrever ou colar etiquetas sobre o código de barras que é utilizado como instrumento para reconhecer a garrafa.
- Não colar etiquetas na garrafa.



Figura 63

Descarte

- Descartar o *kit* de coleta com segurança, de acordo com regulamentações locais (Figura 64).



Figura 64

- Culturas adicionais podem ser colhidas do mesmo modo.
- Locais de punção diferentes devem ser utilizados para cada hemocultura coletada.

4.15 Coleta de Sangue para Provas Funcionais

Provas funcionais são aquelas em que o organismo do paciente é estimulado ou suprimido, de alguma forma, antes da coleta do exame por meio de ingestão de medicamento ou substância, exercícios ou, até mesmo, permanecendo por um período em repouso etc.

Recomenda-se que esses testes tenham acompanhamento médico e que o laboratório disponha de um local separado para a realização dos mesmos.

Devido à particularidade de se fazer coleta seriada de sangue para as provas funcionais, o uso de escalpe neste caso é o mais indicado, assim punciona-se uma só vez esse paciente (Figura 65).

Técnica de utilização do escalpe para curvas glicêmicas, hormonais e outras provas funcionais

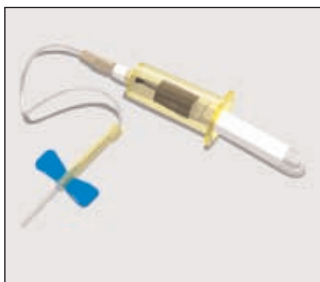


Figura 65: Sistema para coleta de sangue a vácuo, utilizado em coleta múltipla de provas funcionais.

Materiais utilizados

- Seringa descartável de 10,0 mL.
- Heparina (conforme protocolo do laboratório ou hospital).
- Solução fisiológica (ampola de 10,0 mL).
- Seringas estéreis preenchidas com solução de cloreto de sódio 0,9% ou heparina, pois evitam a contaminação do paciente e garantem a esterilidade da solução (Figura 66).



Figura 66

- Tubo para coleta de sangue a vácuo (tampa vermelha), siliconizado, de 10,0 mL, ou um tubo de descarte.
- Tubos específicos para as provas a serem testadas.

- Escalpe para coleta múltipla de sangue a vácuo, ou cateter.
- Bandagem oclusiva.

Em coletas de provas funcionais, é necessário manter o acesso venoso do paciente viável para as coletadas seriadas. Isso pode ser feito por meio da injeção de uma solução de heparina ou salina no escalpe, conforme protocolo do hospital ou laboratório, para evitar a formação de coágulos no tubo vinílico do escalpe.

Passo-a-passo da coleta

- Conferir o material a ser usado no paciente.
- Informar ao paciente sobre o procedimento.
- Higienizar as mãos (ver item 4.4.1).
- Calçar as luvas (ver item 4.4.2).
- Posicionar o braço do paciente, inclinándolo para baixo, na altura do ombro.
- Se o torniquete for usado para seleção preliminar da veia, pedir para que o paciente abra e feche a mão; afrouxar o torniquete e esperar 2 minutos para usá-lo novamente.
- Fazer a antisepsia (ver item 4.4.3).
- Garrotear o braço do paciente (ver item 4.3).
- Retirar da embalagem o escalpe para coleta múltipla de sangue a vácuo e rosqueá-lo no adaptador.
- Fazer a punção com o bisel da agulha voltado para cima; se necessário, para melhor visualizar a veia, esticar a pele com a outra mão (longe do local onde foi feita a antisepsia). Colocar um esparadrapo ou similar para prender o *butterfly* no braço do paciente.
- Em geral, solicitar repouso de 30 minutos antes da coleta basal e da administração de medicamento de estímulo ou supressão (início do teste funcional).
- Inserir o tubo para a coleta da primeira amostra da prova e colher em seguida os exames basais.
- Desgarrotear o braço do paciente.
- Conectar a seringa de 10,0 mL no adaptador, de forma que o bico da seringa empurre a borracha da agulha; injetar cuidadosamente a solução preparada até que a extensão do escalpe se apresente limpa (1,0 a 2,0 mL), tomar cuidado para não injetar a solução na veia do paciente.
- Desconectar e reservar a seringa.
- Administrar a medicação ou substância específica à prova do paciente e marcar o tempo.

- Na próxima coleta, introduzir o tubo siliconizado (ou tubo de descarte, ver item 4.7) e aspirar de 1,0 mL a 2,0 mL de sangue, com a finalidade de limpar a extensão do escalpe.
- Inserir o tubo para a coleta da 2ª amostra da prova.
- Novamente, injetar cuidadosamente a solução preparada até que a extensão do escalpe se apresente limpa (1,0 a 2,0 mL); tomar cuidado para não injetar a solução na veia do paciente, proceda assim até o final da prova.
- Tanto a seringa como o tubo siliconizado (ou de descarte) devem ser identificados e separados em uma cuba ou recipiente similar, e descartados ao final da prova.

4.16 Coleta de Sangue em Pediatria e Geriatria

Como o acesso venoso em pacientes pediátricos e geriátricos é difícil, pois estes possuem veias menos calibrosas, o êxito de uma coleta nesses pacientes requer agulhas de menor calibre, escalpes e tubos de menor volume (Figura 67).

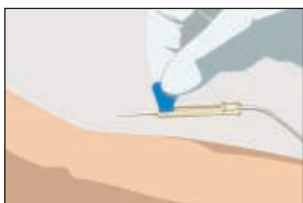


Figura 67: Escalpe para coleta de sangue a vácuo com dispositivo de segurança.

4.17 Coleta de Sangue em Pacientes com Queimaduras

Dependendo do estado do paciente queimado, deve-se manter uma via de acesso preservada para infusão. No caso de coleta de sangue, recomenda-se procurar uma veia íntegra. Além disso, esta coleta também requer agulhas de menor calibre, escalpes e tubos de menor volume.

Caso não exista nenhuma via além do acesso do cateter, recomenda-se contar o médico responsável. Essa coleta deve ser feita por profissional qualificado.

Em alguns casos, pode-se colher sangue por punção capilar, com lancetas e microtubos.

4.18 Gasometria

A coleta de sangue arterial ou venoso para análise dos gases sanguíneos requer cuidados na escolha do material adequado a ser utilizado na coleta, na conservação da amostra e no transporte imediato ao laboratório. A análise dos gases no sangue arterial é fundamental no tratamento de pacientes críticos,

sendo, em geral, necessária quando a amostra venosa não permite a medição de todos os parâmetros requeridos pelo médico-assistente. Assim, neste item, discutiremos a coleta de amostras arteriais e venosas.

Identificação do paciente

A identificação correta do paciente, juntamente com outras informações complementares, são essenciais para que o laboratório possa avaliar corretamente os resultados obtidos após análise da amostra. Os dados mais relevantes são:

- nome completo do paciente, idade e sexo;
- número/registro do paciente;
- identificação do médico solicitante;
- localização do paciente: andar, quarto e leito;
- data e horário da obtenção da amostra;
- fração de oxigênio inspirado (F_iO_2);
- temperatura do paciente;
- frequência respiratória;
- modo da ventilação: respiração espontânea ou ventilação assistida/controlada;
- local da punção;
- posição ou atividade: em repouso ou após prática de exercício;
- identificação do flebotomista.

Avaliação do paciente

- Se o paciente estiver consciente, é importante que seja informado sobre o procedimento ao qual será submetido.
- O consentimento deve ser obtido previamente à coleta.
- As condições de coleta devem ser verificadas e documentadas.
- Deve-se ter atenção especial com pacientes em terapia com anticoagulantes.
- Observar o estado do paciente em relação à temperatura, ao padrão de respiração e à concentração de oxigênio inalado.
- O paciente deve estar numa condição ventilatória estável por aproximadamente 20 a 30 minutos antes da coleta, quando em respiração espontânea. Os outros pacientes (por exemplo, em ventilação mecânica, em uso de máscara de oxigênio etc.) necessitam de 30 minutos ou mais para alcançar o equilíbrio após alteração nos padrões ventilatórios.

Tipos de seringas

O documento do CLSI C46-A – *Blood Gas and pH Analysis Related Measurements; Approved Guideline* recomenda o uso de seringas plásticas preparadas com anticoagulante apropriado, preferencialmente, a heparina liofilizada. A seringa pode ser mantida à temperatura ambiente, por, no máximo, 30 minutos após a coleta. Na coleta com seringa de plástico, não se indica a manutenção da amostra em ambiente refrigerado.

Nas situações em que houver a possibilidade de atraso significativo na análise (mais de 30 minutos), recomenda-se a coleta em seringas de vidro e conservação em gelo e água.

Anticoagulantes

A melhor opção é utilizar uma seringa previamente preparada com heparina de lítio jateada na parede, com “balanceamento” de cálcio. Esse tipo de material é facilmente obtido no mercado e apresenta uma relação custo/eficiência satisfatória. De acordo com o International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), a seringa de gasometria deve conter 50 UI de heparina lítica balanceada com cálcio por mL de sangue total.

O uso de seringa, de preparação “caseira”, utilizando heparina líquida com “baixa concentração” de sódio também é aceitável, porém aumenta a possibilidade de interferência na dosagem de cálcio iônico, pois existe a possibilidade da heparina ligar-se quimicamente ao cálcio, resultando em valores falsamente mais baixos do que o real.

A introdução do cálcio em concentração “balanceada” nas seringas destinadas especificamente para coleta de gasometria e eletrólitos tem por finalidade minimizar os efeitos da queda deste íon na amostra. A heparina líquida, em excesso, pode ainda causar diluição da amostra, resultando em valores incompatíveis com a situação clínica do paciente. Já as seringas específicas para a análise de gases sanguíneos, além de eliminarem o risco de diluição da amostra, asseguram a proporção exata entre volume de sangue e anticoagulante, evitando, assim, a formação de microcoágulos que podem produzir resultados errôneos, bem como obstruir os equipamentos analisadores de gases sanguíneos.

A heparina utilizada para fins terapêuticos para anticoagulação sistêmica não deve ser utilizada como agente anticoagulante na análise de gases sanguíneos. A elevada concentração de heparina por mL pode alterar o pH da amostra e o resultado de cálcio ionizado.

Coleta de gasometria

Os locais usuais para a realização da punção arterial são as artérias radial, braquial ou femural. Em situações especiais, como, por exemplo, recém-nascidos, pode-se optar pelas artérias do couro cabeludo ou as artérias umbilicais durante as primeiras 24 a 48 horas de vida. Após a obtenção da amostra arterial ou venosa, despreza-se a agulha, esgota-se o ar residual, veda-se a ponta da seringa com o dispositivo oclisor e homogeneiza-se suavemente, rolando-a entre as mãos (Figura 68). O material necessita ser encaminhado imediatamente ao laboratório, o ideal é que não exceda o prazo de 15 minutos.



Figura 68: Seringa de gasometria vedada e pronta para ser enviada ao laboratório.

4.19 Testes de Coagulação

Para esse tipo de coleta, algumas das informações fornecidas são importantes durante a interpretação da análise de consistência dos resultados, tais como: nome da medicação em uso, horário da última tomada da medicação, horário da coleta e nome do flebotomista.

Estas recomendações apoiam-se no documento CLSI H21-A5 – *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – 5th ed. Vol.28, N°5.*

Comentários sobre a coleta

- Coleta com seringa pode ser utilizada, mas deve-se empregar seringa com material cuja superfície não seja ativadora (polipropileno) e de pequeno volume, para não haver formação de microcoágulos.
- Cuidados maiores devem ser tomados na transferência do material da seringa, para um tubo de coleta. Deve-se manter um fluxo contínuo durante o processo de transferência, particularmente evitando-se o turbilhonamento de sangue.
- Recomenda-se que o processo de homogeneização do sangue ao anticoagulante citrato ocorra num intervalo inferior a 1 minuto, após a coleta.

- Atender às especificações relativas à coleta de sangue em pacientes cateterizados, citadas no item 4.13.1 deste documento.
- Segundo a literatura, os resultados de tempo de protrombina (TP) e o cálculo do International Normalized Ratio (INR) obtidos de pacientes normais, pacientes submetidos à terapia de anticoagulação oral com varfarina e pacientes com tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA) normal, não seriam afetados, se realizados no primeiro tubo coletado sem o tubo de descarte. No entanto, uma vez que os outros testes de coagulação podem ser afetados, nessa situação, é aconselhável fazer a coleta de um segundo tubo para as outras provas de coagulação, ou realizar o procedimento de coleta do tubo de descarte (ver item 4.9).

Causas de rejeição de amostras

Para os testes de coagulação, as amostras que apresentarem uma ou mais das seguintes características devem ser rejeitadas:

- material coagulado;
- coleta efetuada com o anticoagulante incorreto;
- tubos coletados desrespeitando-se a proporção adequada entre sangue e anticoagulante, para mais ou para menos. O CLSI considera seguro e aceitável uma variação de até 10% nesta proporção;
- tubos contendo amostras identificadas erroneamente;
- tubos sem identificação da amostra;
- material coletado ou estocado em tubos que tenham superfície ativadora de coágulo;
- forte hemólise;
- amostras de sangue total congeladas, antes de serem processadas;
- amostras de sangue total ou plasma para teste de TP que foram previamente armazenadas sob refrigeração;
- amostras de sangue total para testes de fator de Von Willebrand ou fator VIII que foram armazenadas sob refrigeração previamente ao ensaio.

Transporte de amostras

- Logo após a coleta, as amostras devem ser transportadas à temperatura ambiente, de acordo com a política institucional e as medidas de biossegurança.
- O transportador deve ser qualificado para esse tipo de transporte.
- Para cada amostra, recomenda-se registrar a data de envio, a data de recebimento do material no laboratório e a temperatura aproximada de recebimento do material no laboratório.

- Para testes de hemostasia utilizando plasma, não se recomenda o uso de gelo no transporte, devido à ativação que o frio faz do fator VII, perda do fator de von Willebrand ao rompimento de plaquetas.
- Alterações bruscas de temperatura devem ser evitadas durante o transporte deste material.
- O tempo ideal para este transporte é de uma hora após a coleta. Dependendo do tipo de exame solicitado será definido o prazo de aceitação da amostra a ser processada.
- Por exemplo, para o ensaio do TP, pode-se aceitar o material até 24 horas após a sua coleta.
- Na monitorização da terapia com heparina, devida a potencial neutralização pelo fator IV plaquetário, a demora na centrifugação não deve exceder uma hora, para amostras colhidas com citrato de sódio, ou 4 horas, à temperatura ambiente, para amostras colhidas em CTDA (citrato contendo teofilina, adenosina e dipiridamol).
- No uso de sistemas pneumáticos para o transporte das amostras, os tubos devem ser protegidos das vibrações e choque, para evitar a desnaturação proteica e a ativação de plaquetária, através da formação de espuma nas amostras.
- Para resultados mais acurados em alguns testes de coagulação, algumas amostras requerem um manuseio especial, tais como: resfriamento lento e transporte à temperatura corporal (aproximadamente 37°C).

Estocagem

- Amostras para os ensaios Tempo de Protrombina podem ser mantidas não centrifugadas ou centrifugadas com o plasma e os seus componentes celulares, em tubo ainda fechado à temperatura ambiente por até 24 horas, a partir do momento da coleta. Esta integridade aumenta caso a centrifugação ocorra imediatamente após a coleta do sangue. Não se recomenda o resfriamento ou o congelamento destas amostras.
- Amostras para a rotina de TTPA para pacientes não heparinizados podem ser mantidas não centrifugadas ou centrifugadas com os componentes celulares em tubo fechado à temperatura ambiente por até 4 horas após a coleta.
- Amostras para a rotina de TTPA para pacientes heparinizados devem ser mantidas à temperatura ambiente, sendo centrifugadas dentro de uma hora, após a coleta, e o plasma deve ser dosado em até 4 horas, a partir do horário da coleta.

- Amostras para outros ensaios (antifator Xa, tempo de trombina, proteína C, fator V) devem ser conservadas à temperatura ambiente, centrifugadas, com remoção do plasma e devem ser dosadas em até 4 horas após a coleta.
- Amostras estocadas com sangue total e refrigeradas ou congeladas são inaceitáveis para os seguintes testes: TP, TTPA, fator de von Willebrand e fator VIII.

4.20 Coleta para Dosagem de Cálcio Ionizado

O cálcio ionizado é reconhecido como o melhor indicador de avaliação fisiológica do cálcio no sangue. A solicitação de sua dosagem no sangue vincula-se na prática clínica a:

- monitoramento de pacientes em situações críticas;
- rotina diagnóstica;
- pesquisa.

O cálcio ionizado, iônico ou livre, corresponde à porção de íons de cálcio na parte aquosa do plasma, que não está ligado às proteínas ou outras moléculas.

Variáveis pré-coleta

- Atividade física: exercícios moderados podem elevar os resultados, devido à diminuição do pH e do bicarbonato, além do aumento do lactato, albumina e cálcio total durante os exercícios.
- Postura e repouso no leito: mudança de postura afeta a concentração das proteínas e das moléculas a elas vinculadas, assim como a concentração de íons de baixo peso molecular. Essa alteração ocorre pela saída do líquido dos vasos, pelo aumento do tônus muscular e da pressão hidrostática. Ao retornar à postura original, isto se reverte. Pacientes acamados podem ter elevação de até 8% do cálcio ionizado, sem alteração do cálcio total.
- Refeições: após a ingestão, há relatos, na literatura, de uma redução temporária de cerca de 5% do cálcio ionizado. Várias causas podem responder por isto: aumento do pH, da concentração proteica, da concentração de bicarbonato e fosfato. Todos estes fatores contribuem para aumentar a formação de complexos do cálcio com a albumina e outros íons.
- Taxa de ventilação: a alcalose respiratória, induzida pela hiperventilação em voluntários, pode diminuir a concentração de cálcio ionizado em 0,05 mmol/L, a cada 0,1 unidade de aumento no pH.

- Variação circadiana: o cálcio ionizado varia, ao longo do dia, de 4 a 10%. Isso pode ocorrer devido aos seguintes fatores: efeito das refeições, da variação diária do balanço ácido-base e do sono. Dados da literatura apontam que variações hormonais também podem ter alguma influência nesta oscilação.

Recomendações para a coleta do cálcio ionizado

Recomenda-se, para a coleta de sangue para dosagem de cálcio ionizado, que:

- o paciente esteja relaxado e com frequência respiratória normalizada por, pelo menos, 10 minutos;
- mantenha a estabilidade postural por, pelo menos, 5 minutos antes da coleta, sentado ou em pé;
- esteja em jejum por, pelo menos, 4 horas.

Escolha da amostra

O estado clínico do paciente deve influenciar na seleção do tipo de amostra para as dosagens de cálcio ionizado.

Sangue total heparinizado pode ser o mais apropriado para o paciente em estado crítico que requer resultados imediatos. A coleta de soro anaerobicamente pode ser a melhor escolha para a rotina diagnóstica e as aplicações nas pesquisas.

Sangue total heparinizado

Enquanto a maioria dos anticoagulantes se liga ao cálcio, a heparina é habitualmente aceita para as determinações de cálcio ionizado, em razão do baixo grau de ligação ao cálcio, o qual pode ser controlado utilizando-se concentrações de heparina ou heparina balanceada com cálcio ou zinco.

Vantagens do uso do sangue total heparinizado:

- utilização do volume total da amostra;
- amostras disponíveis imediatamente para as análises;
- rapidez nas análises minimiza os efeitos do metabolismo celular na amostra. Outros analitos, tais como os gases sanguíneos, sódio e potássio, podem ser dosados concomitantemente na mesma amostra e no mesmo analisador.

Desvantagens do uso do sangue total heparinizado:

- a heparina se liga aos íons cálcio na proporção de sua concentração, reduzindo, possivelmente, a sua dosagem;
- amostras de sangue total não são estocadas tão bem como o soro;
- a hemólise no sangue total não é rapidamente detectável e pode artificialmente diminuir a medida do cálcio ionizado;
- homogeneização inadequada da amostra pode gerar microcoágulos que interferem no desempenho dos analisadores.

Soro

O soro coletado em condições anaeróbicas é o tipo de amostra mais estável para as determinações de cálcio ionizado; entretanto, tubos incompletamente preenchidos podem sofrer alterações no pH e na concentração do cálcio ionizado. Nas amostras coletadas corretamente, o cálcio ionizado se mantém estável por até 4 horas. Lembrar-se de que o cálcio ionizado tende a diminuir quando as amostras são expostas ao ar ambiente.

Vantagens do uso de soro

- Amostra pode ser utilizada para vários tipos distintos de analitos.
- Estabilidade da amostra por 24 horas em condições anaeróbicas à temperatura de 4°C.

Desvantagens do uso do soro

- Atraso no processamento devido ao tempo para a retração do coágulo (30 a 45 minutos).
- O metabolismo celular continua durante a centrifugação, afetando o cálcio ionizado presente na amostra.
- O volume de soro obtido corresponde à metade do sangue colhido.
- O cálcio ionizado e o pH são afetados pela elevação da temperatura durante a centrifugação, gerando diminuição na dosagem, dependendo da temperatura de centrifugação.

Plasma

O plasma não apresenta vantagem analítica sobre o soro ou o sangue total heparinizado. Assim como no sangue total, a ligação com o cálcio, a adequada homogeneização e a temperatura de estocagem devem ser consideradas.

Da mesma forma que o soro, somente metade do volume de amostra coletado é disponibilizada para análise, e o tempo e a temperatura de centrifugação também alteram o resultado final.

Recomendações

Ao usar sangue total heparinizado:

- empregar preparações de heparina balanceada;
- homogeneizar corretamente a amostra, pois minimiza a formação de microcoágulos;
- analisar a amostra em até 30 minutos após a coleta ou colocar a amostra em banho de água gelada para evitar alterações metabólicas;
- colher a amostra anaerobicamente;
- amostras com heparina de fonte desconhecida ou de concentração não relatada devem ser rejeitadas ou isto ser registrado no laudo.

Ao utilizar soro

- Preencher corretamente o tubo com a amostra.
- Manusear a amostra anaerobicamente.
- Observar a presença ou não de hemólise.

Amostras de sangue colhido em capilares podem ser empregadas para a dosagem de cálcio ionizado, desde que sejam utilizados capilares heparinizados, contendo heparina titulada.

Recomendações para as técnicas de coleta

- Não utilizar o torniquete por tempo excessivo durante a coleta.
- Na coleta com seringa, empregar heparina balanceada para minimizar os efeitos na dosagem de cálcio ionizado.
- Preencher as seringas no seu volume nominal.
- Se uma série de tubos for usada, destinar o primeiro para a dosagem de cálcio ionizado.
- Se a amostra for de sangue capilar, empregar capilar heparinizado.

Recomendações para o transporte das amostras

Sangue total:

- transportar as amostras a 4°C;
- evitar que as amostras sofram aquecimento acima da temperatura ambiente;
- nas seringas, amostras de sangue total não devem ficar mais do que 4 horas a 4°C.

Soro:

- centrifugar o material em até 4 horas após a coleta;
- manter a temperatura durante a centrifugação (+/- 2,5°C);
- material colhido em tubo com gel separador, após centrifugação, pode ser estocado por até 70 horas a 4°C;
- gelo seco não deve ser utilizado para o envio de amostras à longa distância, pois pode induzir saturação de CO₂ na amostra, resultando queda do pH e no aumento do cálcio ionizado;
- não abrir o tubo antes da centrifugação, para manter as condições anaeróbicas previamente à dosagem;
- após a dosagem, manter o tubo fechado.

Essas recomendações baseiam-se no documento do CLSI H31-A2 - *Ionized Calcium Determinations: Precollection Variables, Specimen Choice, Collection, and Handling; Approved Guideline, Second Edition. Vol.21, N° 10 (replaces H31-A Vol.15, N° 20).*

4.21 Coleta e Transporte de Amostras de Sangue para Testes Moleculares

Os cuidados com a coleta de amostras de sangue para testes moleculares devem obedecer aos mesmos critérios para coleta de sangue para outros exames. O uso de luvas é primordial para prevenir a transmissão de agentes patógenos do sangue para o coletor. Além disso, devido à alta sensibilidade dos testes moleculares, o uso de luvas também previne a contaminação da própria amostra por células esfoliadas da pessoa que está manipulando a amostra.

Recomenda-se também o uso de tubos exclusivos para os testes moleculares, ou seja, evitar aliquotar a amostra para outros testes, que não os moleculares, ou abrir o tubo fora do laboratório de diagnóstico molecular.

Os anticoagulantes EDTA e citrato de sódio são os recomendados para testes que requerem sangue total ou plasma. Diversos estudos têm demonstrado que a heparina e o heme (principal componente da hemoglobina) inibem fortemente a reação de polimerase em cadeia (PCR), principal método molecular atualmente utilizado. Assim, deve-se evitar tanto o uso deste tipo de anticoagulante como a hemólise do material, impedindo práticas na coleta que ocasionem quebra das hemácias, como o contato direto com o gelo.

Embora o EDTA seja o anticoagulante escolhido quando deve ser utilizado sangue total ou plasma em testes moleculares, este pode interferir em ensaios *downstream*. Assim, cada laboratório deve seguir a instrução do fabricante ou

do laboratório de apoio, de acordo com cada teste a ser realizado, assim como as orientações de transporte e armazenamento. Quando o EDTA é utilizado, o sangue total pode ser coletado em tubo com ou sem gel separador.

Para testes que têm a amplificação do RNA como alvo, como, por exemplo, carga viral de HIV e HCV, o sangue total deve ser centrifugado e, em caso de não ser utilizado o gel separador, o plasma deve ser removido para um tubo secundário, em até 4 horas após a flebotomia. O plasma já separado em tubo com gel deve ser transportado no mesmo tubo, sem ser aberto, até chegar ao laboratório de diagnóstico molecular. Essas amostras são estáveis por até 5 dias, entre 2° a 8°C, ou por até 30 dias, se congeladas a -20°C ou em temperatura inferior. Assim, cada laboratório deve validar, para cada teste, os efeitos analíticos resultantes do congelamento do plasma em tubos com gel separador e os ciclos de congelamento/descongelamento em tubos secundários.

O sangue total para análise de DNA pode ser armazenado à temperatura ambiente por até 24 horas ou entre 2 e 8°C por até 72 horas antes da extração de DNA. O sangue a ser utilizado para análise de RNA celular deve ser coletado em tubo contendo aditivo estabilizador de RNA, e o sangue a ser utilizado para análise de DNA deve ser coletado em tubo contendo aditivo estabilizador de DNA. O armazenamento de sangue total não-estabilizado não é recomendado para análise de transcrição gênica, devido à indução gênica de artefatos e à degradação do RNA.

O soro deve ser transportado congelado em gelo seco, tanto para estudos de DNA quanto de RNA. Plasma deve ser transportado entre 2 e 8°C e armazenado a -20°C.

Para estudos de RNA, a extração deve se iniciar dentro de 4 horas. Se não for possível, a amostra deve ser, necessariamente, congelada. Para armazenamento em longos períodos, o soro ou o plasma devem ser estocados a -20°C ou em temperatura inferior.

Freezers do tipo *frost-free* não devem ser utilizados para armazenamento de amostras para diagnóstico molecular. A temperatura sofre alterações diversas vezes por dia nesta variedade de *freezer*, causando degradação dos ácidos nucleicos. A carga viral de HIV, HBV e HCV sofrem alterações dependendo do tipo de anticoagulante utilizado, manipulação e armazenamento. Portanto, é importante padronizar a coleta da amostra e o processamento para esses tipos de teste.

5. Garantia da Qualidade

Laudos de testes laboratoriais acurados (exatos e precisos) dependem, em grande parte, de uma flebotomia adequada, com a qual se obtêm amostras de

qualidade. Assim, as diversas variáveis pré-analíticas devem ser controladas de forma a preservar a representatividade e a integridade das amostras.

Essas recomendações para garantia da qualidade na fase pré-analítica fundamentam-se nos programas de acreditação de laboratórios clínicos da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e Colégio Americano de Patologistas (CAP).

5.1 Qualificação dos Fornecedores e Materiais

A gestão de suprimentos da medicina laboratorial incorpora alguns requisitos do sistema de gestão da qualidade, para que as boas práticas em laboratórios clínicos se concretizem. Algumas destas características são recomendadas a seguir:

- especificações para aquisição de insumos e materiais, em função das características de impacto sobre a qualidade pretendida;
- qualificação dos fornecedores de materiais considerando-se os produtos especificados e outras características importantes para a organização. Recomenda-se a avaliação periódica dos fornecedores, com base em indicadores de desempenho;
- avaliação da capacidade de disponibilização de suprimentos, de forma a manter a execução ininterrupta de suas atividades;
- sistema de inventário e controle de suprimentos ao longo de todo o processo da aquisição e fornecimento de insumos;
- garantia de rastreabilidade dos dados relativos ao uso e à validade dos suprimentos;
- monitoramento continuado da qualidade dos insumos, dos materiais e do desempenho dos respectivos fornecedores;
- registros de eventuais irregularidades referentes aos insumos, aos materiais e aos impactos gerados, incluindo-se as ações corretivas resultantes;
- análises críticas dos fornecedores, dos insumos, dos materiais adquiridos e de seu desempenho, do ponto de vista da adequação, eficiência e eficácia.

Ao laboratório, recomenda-se avaliar criticamente, de preferência antes da sua aquisição, os materiais de coleta, principalmente os recipientes, de forma a padronizar o uso de materiais, o que garante a não-interferência desses itens nas análises a serem realizadas. Isso pode ser feito mediante uma combinação de estratégias, como testagem direta, revisão da literatura e avaliação das informações obtidas dos fabricantes (trabalhos científicos desenvolvidos pelo fa-

bricante em instituições médicas de referência nacional e mundial, comprovando a funcionalidade de seus produtos) e dos fornecedores. Não há necessidade de testes locais exaustivos, contudo, não há como garantir que os recipientes de coleta e de transferência dos mais variados fabricantes se comportem de forma absolutamente inerte, uma vez que os materiais usados na sua fabricação podem levar a resultados errôneos, influenciando, inclusive, as prescrições médicas. Igualmente, o preenchimento excessivo ou insuficiente de tubos de coleta a vácuo pode levar a erros.

5.2 Especificação dos Materiais para Coleta de Sangue a Vácuo

5.2.1 Agulhas de coleta múltipla de sangue a vácuo

As agulhas para coleta de sangue a vácuo têm duas pontas: uma maior (proximal), que será inserida no braço do paciente; outra menor (distal), recoberta por um manguito de borracha, que perfura o tubo a vácuo no momento da coleta. No meio da agulha, há uma parte plástica, onde será rosqueado o adaptador para coleta de sangue a vácuo.

Algumas agulhas são siliconizadas e têm o bisel em corte trifacetado a *laser*, com o intuito de facilitar e tornar menos dolorosa a punção. Algumas também possuem dispositivos de segurança, permitindo uma coleta segura ao flebotomista.

Agulhas para coleta múltipla e calibres:

- 25 x 7 mm (21G1), em geral, preta: usualmente indicada para pacientes geriátricos, pediátricos e com acesso venoso difícil;
- 25 x 8 mm (22G1), em geral, verde: usualmente indicada para pacientes com bom acesso venoso; é a agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo mais utilizada.

5.2.2 Adaptadores para coleta de sangue a vácuo

O adaptador é uma peça plástica que, uma vez rosqueada à agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo, possibilita ao flebotomista uma melhor empunhadura e segurança na hora da coleta venosa. Cada fabricante produz o adaptador adequado ao seu sistema de coleta de sangue a vácuo (adaptador, agulha, tubo a vácuo). Cabe ao laboratório especificar, em sua compra, o adaptador compatível com os tubos a vácuo e agulhas para coleta múltipla que utiliza, obtendo, assim, as facilidades do sistema a vácuo e evitando a perda de materiais por incompatibilidade entre eles.

5.2.3 Escalpes para coleta múltipla de sangue a vácuo

Os escalpes para coleta de sangue a vácuo são similares aos escalpes de infusão, a diferença é que no luer, porção final do tubo vinílico, existe uma peça acoplada, onde o adaptador é rosqueado com uma agulha recoberta por uma manga de borracha. Alguns escalpes possuem dispositivos de segurança que, ao término da punção, recobrem ou recolhem a agulha, protegendo o flebotomista de uma contaminação por acidente com material perfurocortante.

Escalpes para coleta de sangue a vácuo e calibres:

- 21G (calibre 8), em geral, verde: usualmente utilizado para pacientes com bom acesso venoso;
- 23G (calibre 6), em geral, azul claro: é o mais utilizado em neonatos, pacientes geriátricos, pediátricos e em tratamentos com quimioterápicos, pois possuem acesso venoso difícil;
- 25G (calibre 5), em geral, azul escuro: usualmente utilizado para o mesmo perfil de pacientes anteriormente descritos, porém, com acessos venosos ainda mais difíceis.

O flebotomista deve escolher o produto que melhor se adequa ao acesso venoso de seu paciente.

5.2.4 Tubos para coleta de sangue a vácuo

Os tubos para coleta de sangue a vácuo são de uso único, devem ter seu interior estéril e possuir vácuo calibrado e volume/quantidade de anticoagulante proporcional ao volume de sangue a ser aspirado especificado em sua etiqueta.

Temos no mercado tubos de diversos volumes de aspiração e características físicas; dessa forma, o que deve ser verificado é se o produto está devidamente registrado na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), e se é fabricado de acordo com as Boas Práticas de Fabricação estabelecidas pela ANVISA e/ou por outros padrões internacionais como ISO 6710.2, CLSI, *Food and Drug Administration* (FDA) e Comunidade Europeia (CE).

Importante também é verificar se o fabricante comprova a funcionalidade dos tubos, preferencialmente, por meio de documentação científica. Outro ponto relevante é a compatibilidade desses tubos com os equipamentos usados no laboratório. Por fim, quando houver mudança de fornecedor, é importante solicitar essas informações ao fabricante.

5.3 Comentários sobre a ISO 6710.2 – *Single-use Containers for Human Venous Blood Specimen Collection*

A Norma ISO 6710.2 é uma padronização internacional que especifica, principalmente ao fabricante, requisitos e metodologias para testes de tubos de uso único para coleta de sangue, a vácuo e não-vácuo. Ela não especifica, contudo, requisitos para agulhas e adaptadores utilizados na coleta de sangue.

Os fabricantes devem basear-se nestas especificações para a fabricação de seus tubos para coleta de sangue a vácuo e não-vácuo (Tabela 9).

A norma específica para a fabricação dos tubos recomenda que o tubo deve ser fabricado com um material que permita uma clara visão do conteúdo quando submetido a uma inspeção visual, e, ainda, que a superfície interna dos tubos de vidro para testes de coagulação evite a ativação do coágulo.

Se o tubo for recomendado para análises específicas de certas substâncias, o nível máximo de contaminação interior deste tubo com esta substância e seu método analítico aplicado deve estar contido na literatura que o acompanha, na sua etiqueta ou na embalagem. Para determinações de metais e outras substâncias específicas, a formulação do material da rolha deve ser tal que não interfira nos resultados das análises.

É importante notar que, para determinações de alta sensibilidade analítica (ex: fluorimetria), os limites de interferência usualmente testados podem não estar adequados, recomendando-se consultas ao fabricante a respeito de potenciais interferentes.

Tubos que contenham anticoagulantes, que sabidamente podem atuar como potenciais meios de cultura (ex. citrato e ácido cítrico-ACD, citrato e dextrose), devem ser estéreis. A esterilidade é obrigatória também quando, durante a coleta de sangue, existir a possibilidade do contato direto entre o interior do tubo e o fluxo sanguíneo do paciente; portanto, o fabricante deve garantir que o interior de seus tubos seja estéril.

A norma especifica também os aspectos relativos à capacidade dos tubos e aos testes previstos para a avaliação da variação de capacidade permitida. Para tubos com aditivos, há especificação de espaço suficiente para que possa ser efetivada uma homogeneização mecânica ou manual. Os tubos também devem ser projetados para que apresentem apenas uma variação de aspiração do volume nominal de $\pm 10\%$.

Adicionalmente, a norma especifica a tampa do tubo, de forma que não seja desprendida durante a homogeneização, havendo um teste de vazamento preconizado para assegurar isto. A tampa do tubo também deve ser desenvolvida com um *design* que permita sua remoção manual ou por métodos mecâ-

nicos, e que evite contaminação do usuário pela amostra (protegendo-o do efeito aerossol).

Há métodos específicos para testar a resistência do tubo que contém amostra, que deve resistir a uma aceleração de 3.000 g em um eixo longitudinal.

Tabela 9 - Códigos alfa e de cores recomendados para identificação dos aditivos*

Aditivos	Código Alfa	Código de cores	Exames mais comuns
EDTA ¹ sal dipotássico	K2 E	Lilás	
sal tripotássico	K3 E	Lilás	Hemograma
sal dissódico	N2 E	Lilás	Plaquetas
EDTA sal dipotássico com gel separador	K2 E	Branca translúcida	Biologia molecular
Citrato trissódico 9:1 ²	9NC	Azul claro	Testes de coagulação
Citrato trissódico 4:1 ²	4NC	Preta	Velocidade de hemossedimentação
Fluoreto/oxalato	FX	Cinza	Glicose
Fluoreto/EDTA	FE	Cinza	Glicose
Fluoreto/heparina	FH	Verde	Glicose
Heparina de lítio	LH	Verde	Exames bioquímicos em geral, gasometria (somente em seringa pré-heparinizada)
Heparina de sódio	NH	Verde	Exames bioquímicos em geral
Citrato, fosfato, dextrose, adenina	CPDA	Amarela	Preservação de células
Siliconizado ³	Z	Vermelha	Exames sorológicos e bioquímicos em geral
Ativador de coágulo e gel separador	Ativador de coágulo	Amarela	Exames sorológicos, bioquímicos em geral, drogas terapêuticas e hormônios

1. EDTA é a abreviação para ácido etilenodiaminotetracético

2. Demonstra o raio entre o volume de sangue pretendido e o volume de anticoagulante (ex. 9 partes de sangue para 1 parte de anticoagulante citrato de sódio).

3. É recomendado que tubos que não contenham ativador de coágulo sejam codificados com a letra Z e tenham a cor vermelha, assim como a descrição do reagente.

* Quadro adaptado relacionando as áreas onde serão utilizados os tubos.

Fonte: ISO 6710.2 – Single-use Containers for Human Venous Blood Specimen Collection.

As normas do CLSI recomendam o uso de alguns tipos de anticoagulantes que preservam melhor a qualidade das amostras, como, por exemplo:

- EDTA K2 é o anticoagulante recomendado para hematologia por preservar melhor a integridade das células sanguíneas. Esse anticoagulante também é recomendado pelo *International Council for Standardization in Haematology* (ICSH);
- citrato de sódio tamponado a 0,109 mol/L (3,2%) na proporção de 9:1, ou seja, 9 partes de sangue para 1 parte de citrato, é o anticoagulante recomendado para testes de coagulação.

A ISO 6710.2 recomenda que as etiquetas não devam circundar completamente os tubos, e a cola usada deve fornecer uma aderência adequada às condições de temperatura e umidade de uso do tubo, durante um tempo adequado. O fabricante é responsável por informar as condições de resistência da etiqueta.

5.3.1 Informações que o tubo a vácuo deve apresentar no rótulo ou no tubo

- Marca do fabricante/fornecedor ou marca registrada.
- Número do lote.
- Código do aditivo ou descrição do conteúdo.
- Data de validade.
- Volume nominal.
- Linha de preenchimento, quando necessário (para tubos sem vácuo).
- A palavra “estéril”, se o fabricante garantir que o interior do tubo, antes de ser aberto, é estéril.
- As palavras “produto de uso-único” ou um símbolo gráfico de acordo com a ISO 7000-1051.
- Se for usado glicerol na fabricação do produto, isto deve estar descrito no rótulo e na embalagem.

Até o momento, não existe um acordo internacional de codificação por cores, mas a maioria dos fabricantes segue uma padronização de cores de tampas, ajudando a evitar a possibilidade de erros pré-analíticos na coleta laboratorial.

5.3.2 Concentração e volume dos anticoagulantes

A norma ISO 6710.2 especifica as concentrações dos anticoagulantes, molaridade e proporção em relação à quantidade de sangue aspirada pelos tubos.

Sais ácidos etilenodiaminotetracéticos (EDTA) $[\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH}_2)]_2$

As concentrações dos sais dipotássico, tripotássico e dissódico devem estar dentro do intervalo de 1,2 mg a 2,0 mg de EDTA anidro por 1,0 mL de sangue.

Citrato trissódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

As concentrações de solução de citrato trissódico devem estar dentro do intervalo de 0,1 mol/L a 0,136 mol/L, com uma tolerância permitida de $\pm 10\%$. Alguns estudos revelam que o tubo de citrato não deve ter volume de aspiração parcial, para evitar a agregação plaquetária ativada pelo espaço livre no tubo.

O tubo de citrato deve ser produzido para que aspire uma solução de 9:1, ou seja, 9 partes de sangue adicionadas a 1 parte de solução de citrato.

O tubo para VHS (velocidade de hemossedimentação), pelo método Westergreen, deve aspirar 4 partes de sangue adicionadas a 1 parte de citrato trissódico.

Fluoreto/Oxalato

As concentrações de oxalato de potássio mono-hidratado devem estar dentro do intervalo de 1,0 mg a 3,0 mg, e de 2,0 mg a 4,0 mg de fluoreto de sódio por mL de sangue.

Fluoreto/EDTA

As concentrações de EDTA devem estar dentro do intervalo de 1,2 a 2,0 mg de EDTA, e de 2,0 a 4,0 mg de fluoreto de sódio por mL de sangue.

Fluoreto/Heparina

As concentrações de heparina devem estar dentro do intervalo de 12 a 30 UI (Unidade Internacional) de heparina, e de 2,0 a 4,0 mg de fluoreto de sódio por mL de sangue.

Heparina de sódio e heparina de lítio

As concentrações dos anticoagulantes acima devem estar dentro de um intervalo de 12 a 30 UI (Unidade Internacional) por mL de sangue.

Citrato (C)/Fosfatase (P)/Dextrose (D) /Adenosina (A) - (CPDA)

A formulação deste aditivo deve ser:

Ácido cítrico anidro	2,99 g
Citrato trissódico (desidratado)	26,3 g
Fosfato de sódio monobásico (mono-hidratado) $[\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}]$	2,22 g

Dextrose (mono-hidratada)	31,9 g
Adenina [C ₅ H ₅ N ₅]	0,275 g
Água em quantidade suficiente para formar	1.000 mL

Devem ser adicionadas 6 partes de sangue para 1 parte de CPDA, com uma tolerância de $\pm 10\%$.

Nota: *Os aditivos podem apresentar-se fisicamente em várias formas, como: solução, solução de spray seco, liofilizado ou pó. Os intervalos de concentração permitem diferentes raios de solubilidade e difusão dessas várias formas, especificamente para o EDTA.*

5.4 Requisição de Exames

Todas as amostras devem ser acompanhadas de requisição formal adequada, em consonância com uma política de identificação e registro consistentemente aplicável e, sempre que oportuno, recomenda-se que haja informações adicionais, em conformidade com o tipo de exame solicitado, tais como: medicamento em uso, dados do ciclo menstrual e indicação clínica.

Cada paciente deve ser cadastrado de forma que sua identificação seja rigorosamente fidedigna.

Considera-se neste documento, para efeito de esclarecimento, como amostra primária aquela obtida durante o processo da flebotomia.

5.5 Identificação e Rastreabilidade

A identificação da amostra primária começa na identificação do paciente hospitalar ou ambulatorial.

Essa etapa é, portanto, crucial. A partir desse momento, deve-se buscar uma forma de estabelecer um vínculo seguro e indissociável entre o paciente, a amostra colhida, o flebotomista e os materiais para que, no final do processo, seja garantida a rastreabilidade.

Cada laboratório tem autonomia para estabelecer sua própria sistemática para identificação correta das amostras dos pacientes, desde o local de coleta até o seu descarte, passando por todas as fases e etapas dos processos analíticos. Ressalte-se a importância desses esforços, sobretudo em situações nas quais o laboratório recebe o material já coletado de outras unidades ou de outros laboratórios.

5.6 Documentação

Recomenda-se a disponibilização de instruções escritas para coleta de sangue venoso e que as mesmas estejam disponíveis para os flebotomistas em todos os locais necessários, permanentemente.

É recomendável que o manual de coleta/processamento de amostras seja revisado quando necessário ou periodicamente, de forma a garantir a atualidade de seu conteúdo. Todas as alterações devem ser analisadas criticamente antes de sua implementação, de forma a garantir que o conteúdo corresponda às práticas reais e atuais. Todas as emissões, alterações e revisões deste documento devem ser aprovadas, mantendo-se registros correspondentes a essas atividades. O responsável técnico pelo laboratório é quem responde pela documentação e por sua revisão, mas essas funções podem ser formalmente delegadas a uma pessoa habilitada.

Para amostras que serão enviadas para laboratórios de apoio ou de referência, recomenda-se que estejam disponíveis as instruções pré-analíticas provenientes dos respectivos laboratórios, atualizadas e fiéis.

Recomenda-se, como conteúdo mínimo do manual de coleta, os seguintes itens:

- lista das análises laboratoriais disponíveis;
- informações, para os usuários dos serviços, relativas às indicações e à seleção dos procedimentos laboratoriais;
- instruções para o preenchimento das requisições (em papel ou em formulário eletrônico);
- procedimento para identificação positiva e detalhada do cliente, no momento da coleta;
- informações clínicas, quando necessárias (ex: triagem materno-fetal de defeito de tubo neural, monitorização de drogas terapêuticas);
- instruções para o preparo do paciente;
- cronologia para a coleta da amostra, quando apropriado;
- necessidade de cronometragem especial para a coleta (p. ex: depuração de creatinina);
- tipos e quantidades de aditivos (anticoagulantes e/ou conservantes) a serem utilizados;
- tipo de amostra a ser coletada;
- condições especiais para o processamento da amostra, desde a coleta até o seu recebimento na respectiva área técnica (p. ex: refrigeração, entrega imediata, aquecimento etc.);
- identificação e rotulagem adequadas das amostras primárias;
- registro da identidade do coletador da amostra primária;

- descarte seguro dos materiais de coleta;
- armazenamento das amostras.

5.7 Transporte e Preservação das Amostras

Recomenda-se que haja documentação sobre o transporte e preservação das amostras coletadas ou recebidas, visando-se assegurar a sua integridade, estabilidade e a segurança pública.

Os documentos devem estabelecer prazo, condições de temperatura e padrão técnico para garantir a integridade e a estabilidade das amostras e dos materiais. Além disso, o transporte das amostras em áreas comuns a outros serviços ou de circulação de pessoas deve ser feito em condições de segurança para os transportadores e para o público em geral.

Recomenda-se, ainda, que haja inspeção do material biológico no ato do recebimento das amostras coletadas, por pessoal competente para essa tarefa de rastreamento. Para tanto, é necessário o estabelecimento de critérios de aceitação, rejeição ou aceitação de amostras com restrições. Nas situações em que a aceitação ocorrer sob restrições, recomenda-se que haja registros identificando o responsável pela sua liberação.

5.8 Capacitação e Treinamento do Pessoal

Todo o pessoal que realiza coleta de sangue, inclusive aquele que atua em unidades captadoras de análises laboratoriais, à distância da unidade processadora de análises laboratoriais, deve receber treinamento nas técnicas de coleta, seleção e uso dos equipamentos e materiais adequados, com registro dessa atividade.

Recomenda-se uma sistemática que permita que os coletadores recebam informações sobre a qualidade das amostras coletadas por eles.

6. Aspectos de Segurança na Fase de Coleta

As medidas de segurança visam salvaguardar o coletor de qualquer possibilidade de contaminação, bem como evitar injúria ao paciente, no ato da coleta.

6.1 Segurança do Paciente

Cabe ao funcionário tranquilizar o paciente antes da coleta, para que seja realizada com sucesso: caso o paciente esteja preocupado com a intensidade da dor decorrente do procedimento, deve-se agir com honestidade, explicando que a sensação dolorosa produzirá um leve desconforto, porém, de curta duração.

Recomenda-se que a coleta seja realizada com o paciente acomodado confortavelmente, sentado ou deitado, orientando-se o paciente sobre a importân-

cia da manutenção do membro superior imóvel durante todo o ato da coleta. Nas coletas infantis e em casos de portadores de condições especiais, recomenda-se que a orientação seja transmitida também para os acompanhantes.

Não existe um procedimento que facilite, com eficiência, uma coleta infantil, porém, artifícios relativamente simples podem auxiliar, sobremaneira, neste tipo de coleta. Ao lidar com crianças, pode-se solicitar sua colaboração, convidando-as a participar ativamente do processo da coleta, por exemplo, segurando o algodão, gaze ou o curativo adesivo. O uso de curativos estampados com figuras e temas infantis também auxilia, transmitindo uma impressão positiva da coleta de sangue.

6.2 Riscos e Complicações da Coleta

Recomenda-se que a equipe de coleta do laboratório institua medidas de segurança para que os riscos e as complicações decorrentes dessa atividade sejam mínimos para os pacientes. Certamente, a padronização de condutas e os treinamentos frequentes dos funcionários envolvidos contribuem para que a meta de redução de riscos e complicações seja alcançada e, desse modo, o serviço seja reconhecido como seguro e confiável.

6.3 Formação de Hematoma

A formação de hematoma é a complicação mais comum da venopunção. O hematoma origina-se do extravasamento do sangue para o tecido, durante ou após a punção, sendo visualizado na forma de uma protuberância. A dor é o sintoma de maior desconforto ao paciente, e, eventualmente, pode ocorrer a compressão de algum ramo nervoso. Caso a formação do hematoma seja identificada durante a punção, deve-se retirar imediatamente o torniquete e a agulha e, em seguida, realizar uma compressão local durante pelo menos dois minutos. O uso de compressas frias pode auxiliar na atenuação da dor local.

As situações que podem precipitar a formação de um hematoma são:

- existência de veia frágil ou muito pequena em relação ao calibre da agulha;
- quando a agulha ultrapassa a parede posterior da veia puncionada;
- quando a agulha perfura parcialmente a veia, não a penetrando por completo;
- realização de diversas tentativas de punção sem sucesso;
- a agulha é removida sem a prévia retirada do torniquete;
- aplicação de pressão inadequada no local da punção.

6.4 Punção Acidental de uma Artéria

A probabilidade de puncionar acidentalmente uma artéria é um fato relativamente raro, lembrando-se de que a escolha adequada do local da punção é primordial para evitar esse tipo de acidente. Sua ocorrência está associada à tentativa de uma punção venosa profunda e, com mais frequência, quando se tenta puncionar a veia basílica, que se localiza muito próxima à artéria braquial. A punção acidental de uma artéria pode ser identificada pelo “vermelho vivo” do sangue e pela drenagem do sangue em jato, ou pelo ritmo pulsátil do sangue para o interior do tubo. Caso ocorra a punção inadvertida de uma artéria, é importante realizar uma pressão local por, pelo menos, 5 minutos, além de uma oclusão mais eficiente do local da punção.

6.5 Anemia Iatrogênica

O volume de sangue normalmente coletado de pacientes hígidos, para a realização das análises laboratoriais, não produz qualquer tipo de prejuízo ao organismo.

Nos laboratórios hospitalares, há necessidade de adequar-se o volume de sangue, evitando-se redundâncias de exames e recoletas indevidas, principalmente nos pacientes com algum grau de anemia. Nesse caso, especial atenção deve ser dispensada às coletas pediátricas, recomendando-se a utilização de dispositivos específicos para coletas infantis disponíveis no mercado.

Uma boa prática no laboratório clínico é o estabelecimento do volume mínimo necessário para a realização dos parâmetros laboratoriais. A integração entre corpo clínico (médicos e a equipe de enfermagem) e laboratório é fundamental para que haja a prevenção da perda iatrogênica de sangue.

6.6 Infecção

A possibilidade do desenvolvimento de um processo infeccioso no local da venopunção, embora rara, não deve ser desprezada. A antisepsia do ponto de punção deve ser bem executada e a área preparada para a punção não deve ser tocada após este processo. Assim, medidas de antisepsia também devem ser objeto de discussão, padronização e otimização nas atividades de boas práticas.

Dentre as medidas preconizadas e recomendadas estão: o uso de algodão hidrófilo embebido em álcool etílico comercial, álcool iodado ou antissépticos à base de iodo, disponíveis comercialmente. O intervalo entre a remoção do protetor da agulha e o ato da venopunção deve ser o menor possível. O curativo adesivo deve ser aberto somente no momento da aplicação na pele do paciente e mantido por pelo menos 15 minutos após a coleta.

6.7 Lesão Nervosa

Para prevenir lesão de algum ramo nervoso, recomenda-se evitar a inserção muito rápida ou profunda da agulha. A punção de uma veia por meio de múltiplas tentativas de redirecionamento da agulha já inserida, de forma aleatória, não deve ser realizada. Caso não se obtenha sucesso na primeira tentativa de punção, retira-se a agulha e uma segunda punção deve ser realizada, preferencialmente em outro local. O paciente deve ser orientado a não realizar movimentos bruscos durante o ato da coleta.

6.8 Dor

A dor no ato e após a punção é de baixa intensidade e suportável, porém, tranquilizar o paciente antes da coleta auxilia sobremaneira no seu relaxamento, tornando o procedimento menos doloroso.

O local da punção deve estar seco, caso tenha sido utilizado o álcool na antissepsia, fato que diminui a sensação dolorosa.

A dor intensa, parestesias, irradiação da dor pelo braço, apresentadas durante ou após a venopunção, indicam comprometimento nervoso e requerem medidas específicas já citadas.

6.9 Segurança do Flebotomista

A principal forma de transmissão de agentes infecciosos na coleta se dá por contato. O contato pode ser direto (respingos de materiais biológicos que atingem pele e mucosa, acidentes perfurocortantes etc.) ou indireto (contato da pele com superfícies contaminadas, contato da mão contaminada com mucosas ou pele que não esteja intacta). A outra forma de transmissão possível é a inalação de aerossóis. A formação de aerossóis também pode ocorrer durante a preparação das amostras.

A Norma Regulamentadora Brasileira n. 32 ou NR-32 (Segurança e Saúde no Trabalho em Serviços de Saúde), de 11 de novembro de 2005, estabelece as diretrizes para as medidas de proteção e saúde dos trabalhadores dos serviços de saúde, bem como daqueles que exercem atividades de promoção e assistência à saúde em geral.

Em relação à segurança do flebotomista, a norma descreve que são vedados o reencape e a desconexão manual de agulhas (item 32.2.4.15). Deve ser assegurado o uso de materiais perfurocortantes com dispositivo de segurança (item 32.2.4.16), conforme cronograma a ser estabelecido pela Comissão Tripartite Permanente Nacional da NR-32 (CTPN).

Com relação ao esquema de vacinação, a norma descreve que, a todo trabalhador dos serviços de saúde, deve ser fornecido, gratuitamente, programa

de imunização ativa contra tétano, difteria, hepatite B e os estabelecidos no Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional – PCMSO, também conhecida como NR-7 (item 32.2.4.17.1).

6.10 Boas Práticas Individuais

A norma ABNT NBR 14785:2001 trata dos Requisitos de Segurança no Laboratório Clínico aplicáveis a todo o território nacional. Com base nela, recomendam-se as seguintes precauções universais:

- proibir alimentos, bebidas ou fumo na área técnica do laboratório;
- armazenar alimentos exclusivamente em áreas de alimentação, em locais adequados, sendo proibido alimentos ou bebidas nos armários, gavetas, refrigeradores e *freezers* utilizados para o armazenamento de reagentes, amostras biológicas, materiais e insumos para coleta;
- não colocar na boca quaisquer materiais ou objetos empregados no ambiente de trabalho, tais como: canetas, lápis, etiquetas, selos e envelopes;
- jamais pipetar com a boca, devendo-se empregar pipetas automáticas, sempre que necessário;
- não fazer a aplicação de cosméticos e maquiagens na área de coleta;
- evitar o manuseio de lentes de contato na área de coleta do laboratório;
- prender/proteger cabelos e barbas durante a jornada de trabalho no laboratório, a fim de evitar contato com materiais e superfícies contaminados. Estes devem ser mantidos distantes de equipamentos como centrífugas e/ou bicos de Bunsen. Pode-se utilizar tocas descartáveis com esta finalidade;
- limpar e aparar as unhas e caso sejam utilizados esmaltes, preferir os de cor clara;
- evitar o uso de correntes compridas no pescoço, brincos grandes ou braceletes soltos;
- lavar as mãos após o manuseio de qualquer material biológico.

6.11 Equipamentos de Proteção Individual (EPI)

- Utilizar o uniforme recomendado pelo empregador, na área de coleta, cobrindo adequadamente as partes do corpo. Na ausência de um uniforme padrão, é recomendável sobrepor à vestimenta um avental de tecido lavável ou descartável, longo e de mangas compridas, que alcance o nível do joelho. As boas práticas de segurança recomendam que este avental deve sempre ser retirado ao sair da área de coleta do laboratório, não sendo correto seu uso nas áreas de alimentação e descanso.

- Não se recomenda o uso dos equipamentos de proteção individual fora do perímetro onde seu uso está indicado.
- Recomenda-se sempre a utilização de luvas pelo flebotomista durante o ato da coleta. As trocas necessitam ser efetuadas quando houver qualquer contaminação com material biológico.
- Sempre que for necessário, lavar as mãos e, em seguida, colocar luvas novas.
- Não manusear objetos de uso comum (telefone, maçanetas, copos, xícaras etc.) enquanto estiver usando luvas.
- Não descartar as luvas nas lixeiras de uso administrativo.
- Utilizar máscaras quando o ato da coleta do material biológico sugerir risco de contaminação pela formação de gotículas ou aerossóis.
- Utilizar sapatos confortáveis com solado antiderrapante e de saltos não muito altos, para que se minimizem os riscos de acidentes. Na área de coleta, não se recomenda o uso de sandálias, chinelos ou outros calçados abertos.

6.12 Cuidados na Sala de Coleta

- Desinfetar imediatamente as áreas contaminadas.
- Comunicar ao superior imediato os acidentes com material infectante.
- A sala deve ser utilizada exclusivamente para coleta e apenas o paciente e o flebotomista devem permanecer no local. Exceções a essa regra são as situações em que houver necessidade de um acompanhante para auxiliar na execução do procedimento.

6.13 Descarte Seguro de Resíduos

O gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde (RSS), onde se inserem os gerados nos laboratórios, se constitui em um conjunto de procedimentos de gestão, planejados e implementados a partir de bases científicas e técnicas, normativas e legais, com o objetivo de minimizar a produção de resíduos e proporcionar o descarte seguro e eficiente, visando a proteção dos trabalhadores, a preservação da saúde pública, dos recursos naturais e do meio ambiente.

A gestão deve abranger todas as etapas de planejamento dos recursos físicos, materiais e da capacitação dos recursos humanos envolvidos no manejo dos RSS. Esse descarte seguro de resíduos tem como objetivo atender à Resolução CONAMA 283, de 12 de julho de 2001, e as normas que regulamentam a obrigatoriedade do PGRSS.

É recomendável que o laboratório atenda às orientações e regulamentações estaduais, municipais ou federais, no que diz respeito ao gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Assim, antes de implantar e implementar o Programa de Gerenciamento de Resíduos de Saúde, procure saber algumas características, em sua cidade, do aterro sanitário, do sistema de tratamento de águas de esgoto, das empresas especializadas em transporte de resíduos especiais, de abrigo de lixo e etc.

6.13.1 Classificação dos resíduos de saúde

A RDC ANVISA n. 306 de 7 de dezembro de 2004 no seu apêndice I, classifica os resíduos de saúde conforme segue:

- GRUPO A:** resíduos com possível presença de agentes biológicos que, por suas características, podem apresentar risco de infecção;
- GRUPO B:** resíduos contendo substâncias químicas que podem apresentar riscos à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade;
- GRUPO C:** quaisquer materiais resultantes de atividades humanas que contenham radionuclídeos em quantidades superiores aos limites de isenção especificados nas normas do CNEN e para os quais a reutilização é imprópria ou não prevista;
- GRUPO D:** resíduos que não apresentem riscos biológico, químico ou radiológico à saúde ou ao meio ambiente, podendo ser equiparados aos resíduos domiciliares;
- GRUPO E:** materiais perfurocortantes ou escarificantes, tais como: lâminas de barbear, agulhas, escalpes, ampolas de vidro, brocas, limas endodônticas, pontas diamantadas, lâminas de bisturi, lancetas, tubos capilares, micropipetas, lâminas e lamínulas de vidro, espátulas, todos os utensílios de vidro quebrados no laboratório (pipetas, tubos de coleta sanguínea e placas de Petri) e outros similares.

O percentual médio da composição dos resíduos gerados nos estabelecimentos de saúde para os grupos A, B e C varia de 10 a 25%, e de 75 a 90% para o grupo D. O setor de coleta do laboratório pode gerar resíduos classificados nos quatro grupos descritos.

Os laboratórios clínicos necessitam elaborar um Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS) – baseado nas características dos resíduos gerados e na sua classificação, estabelecendo as diretrizes de manejo dos RSS.

O PGRSS obedece a critérios técnicos e à legislação ambiental, devendo ser compatível com as normas locais relativas à coleta, transporte e disposição final dos resíduos gerados nos serviços de saúde, estabelecidas pelos órgãos locais responsáveis por estas etapas. O responsável técnico do laboratório pode ser o coordenador responsável pela elaboração e implantação, mas, quando a sua formação profissional não abranger os conhecimentos necessários, este poderá ser assessorado por equipe de trabalho que detenha as qualificações correspondentes ou necessárias.

É importante divulgar e capacitar a equipe de coleta neste documento, que é requerido por lei, assim como os prestadores de serviço, tais como empresas de conservação e limpeza, pois o documento também contempla as ações a serem adotadas em situações de emergência (incêndio, falta de energia) e em casos de acidentes (por exemplo, por perfurocortantes).

A RDC ANVISA n. 306/2004 aponta que os serviços com sistema próprio de tratamento de RSS necessitam registrar as informações relativas ao monitoramento do RSS, em documento próprio, arquivado em local seguro durante 5 anos.

É recomendável que, antes de implantar o PGRSS no laboratório, se estude por um período de dois a três meses os diferentes tipos de resíduos gerados pelo laboratório, a fim de verificar o percentual de cada um dos tipos de resíduos. Esse conhecimento permitirá que sejam estabelecidos indicadores para monitoramento da melhoria contínua no tratamento dos resíduos, sobretudo aqueles que exigem transportes especiais e que geram custo para a empresa. Além disso, realizar auditorias periódicas do PGRSS permitirá verificar se as metas estão sendo alcançadas e como está a equipe do laboratório no cumprimento dos protocolos estabelecidos pelo programa.

6.13.2 Identificação dos resíduos

Recomenda-se identificar os sacos de acondicionamento, os recipientes de coleta interna e externa, os recipientes de transporte interno e externo e os locais de armazenamento. A identificação deve ser clara e de fácil visualização, conforme NBR 7500 – ABNT, 2000, além de atender as exigências relacionadas à identificação de conteúdo e ao risco específico de cada grupo de resíduos. O uso de adesivos é permitido desde que seja garantida a resistência destes aos processos normais de manuseio dos sacos e recipientes.

6.13.3 Manejo dos RSS

O manejo dos RSS é entendido como a ação de gerenciar os resíduos em seus aspectos dentro e fora do laboratório, desde a geração até a disposição final.

Após o procedimento de coleta, os materiais perfurocortantes (agulhas, lancetas, lâminas de vidro etc.) devem ser imediatamente desprezados em recipientes próprios para o descarte de perfurocortantes. Esses recipientes estão disponíveis comercialmente e são produzidos segundo as especificações técnicas da ANVISA, CONAMA, ABNT e NR32 quanto ao material e à identificação.

O tratamento do resíduo pelo próprio laboratório pode ser realizado empregando-se os seguintes processos de esterilização:

- meios físicos: calor e radiações ionizantes;
- meios químicos: gases (óxido de etileno e formaldeído) ou líquidos microbicidas (tais como glutaraldeído).

Os resíduos da categoria A (com risco biológico), ou seja, aqueles com resíduos de amostras de laboratório contendo sangue ou líquidos corpóreos, recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, com sangue ou líquidos corpóreos na forma livre, devem ser submetidos a tratamento antes da disposição final, utilizando-se processo físico ou outros processos que sejam validados para a obtenção de redução ou eliminação da carga microbiana, em equipamento compatível.

Ao final, se não houver descaracterização física, ou seja, manutenção das estruturas dos resíduos tratados, eles devem ser acondicionados em saco branco leitoso, que deve ser identificado e substituído quando atingir 2/3 de sua capacidade ou, pelo menos, uma vez a cada 24 horas.

Havendo descaracterização física das estruturas, os sacos podem ser acondicionados como resíduos do Grupo D (resíduo comum), de acordo com as orientações dos serviços locais de limpeza urbana, utilizando-se sacos impermeáveis, devidamente identificados, contidos em recipientes.

O acondicionamento para transporte deve ser em recipiente rígido, resistente à punctura, ruptura e vazamento, com tampa provida de controle de fechamento, além de devidamente identificado, de forma a garantir o transporte seguro até a unidade de tratamento.

Para os resíduos do Grupo D, destinados à reciclagem ou reutilização, a identificação deve ser feita nos recipientes e nos abrigos de guarda de recipientes, usando código de cores e suas correspondentes nomeações, baseadas na Resolução CONAMA n. 275/2001, e símbolos de tipo de material reciclável: I- azul – PAPÉIS, II- amarelo – METAIS, III- verde – VIDROS, IV- vermelho – PLÁSTICOS, V- marrom – RESÍDUOS ORGÂNICOS. Para os demais resíduos do Grupo D, deve ser utilizada a cor cinza nos recipientes. Caso não exista processo de segregação para reciclagem, não existe exigência para a padronização de cor destes recipientes.

Segundo a RDC ANVISA, n. 306/2004, para o grupo E, que envolve os materiais perfurocortantes, recomenda-se descartar separadamente, imediatamente após o uso, em recipientes rígidos, resistentes à perfuração, ruptura e vazamento, com tampa e devidamente identificados (norma NBR 13853/97 da ABNT), sendo expressamente proibido o seu reaproveitamento. As agulhas descartáveis não devem ser novamente encapadas.

O volume dos recipientes de acondicionamento deve ser compatível com a geração diária deste tipo de resíduo, sendo descartados quando o preenchimento atingir dois terços de sua capacidade ou o nível de preenchimento ficar a 5 cm de distância da boca do recipiente. Além disso, devem estar identificados com símbolo internacional de risco biológico, acrescido da inscrição “PERFUROCORTANTE”.

6.13.4 Transporte interno de RSS

Consiste no traslado dos resíduos dos pontos de geração até o local destinado ao armazenamento temporário ou armazenamento externo com a finalidade de apresentação para a coleta externa. O transporte interno de resíduos deve ser realizado atendendo roteiro previamente definido e em horários não coincidentes com o maior fluxo de pessoas ou de atividades.

Os recipientes para transporte interno devem ser constituídos de material rígido, lavável, impermeável, provido de tampa articulada ao próprio corpo do equipamento, cantos e bordas arredondados, e identificados com o símbolo correspondente ao risco do resíduo neles contidos.

6.13.5 Armazenamento dos resíduos sólidos de saúde

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC ANVISA n. 306/2004, o armazenamento externo dos resíduos sólidos de saúde, denominado de abrigo de resíduos, necessita ser construído em ambiente exclusivo e segregado, possuindo, no mínimo, um ambiente separado para armazenamento de recipientes contendo resíduos do Grupo A (resíduo com risco biológico), do Grupo E (material perfurocortante), além de um ambiente para o Grupo D (resíduos comuns). O abrigo deve ser identificado e de acesso restrito aos funcionários responsáveis pela manipulação de resíduos, ter fácil acesso para os recipientes de transporte e para os veículos coletadores. Os recipientes de transporte interno não podem transitar pela via pública externa à edificação.

Ainda de acordo com essa norma, o abrigo de resíduos deve ser dimensionado de acordo com o volume de resíduos gerados, com capacidade de armazenamento compatível com a periodicidade de coleta do sistema de coleta local. O

piso deve ser revestido de material liso, impermeável, lavável e de fácil higienização. Há necessidade de aberturas para ventilação de dimensão equivalente a, no mínimo, um vigésimo da área do piso, e tela de proteção contra insetos. A porta ou a tampa do abrigo necessita apresentar largura compatível com as dimensões dos recipientes de coleta. Já os pontos de iluminação, água e energia elétrica podem ser instalados de acordo com as conveniências e necessidades do abrigo. O escoamento da água deve ser direcionado para a rede de esgoto do estabelecimento e o ralo sifonado deve possuir uma tampa que permita a vedação.

É recomendado que a localização não abra diretamente para a área de permanência de pessoas e circulação de público, dando-se preferência aos locais de fácil acesso à coleta externa e próximo às áreas de guarda de material de limpeza ou expurgo.

O trajeto para o transporte de resíduos, desde sua geração até o armazenamento externo, deve permitir livre passagem dos recipientes coletadores de resíduos, possuir piso com revestimento resistente à abrasão, com superfície plana e regular, antiderrapante e uma rampa, quando necessária. As informações acerca da inclinação e características dessa rampa podem ser obtidas na RDC ANVISA n.5/2002.

Referências Normativas Brasileiras Consultadas

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR - 10004 - Resíduos Sólidos - Classificação, segunda edição, de 31 de maio de 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR - 7.500 - Símbolos de Risco e Manuseio para o Transporte e Armazenamento de Material, de março de 2000.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR - 9191 - Sacos plásticos para acondicionamento de lixo - Requisitos e métodos de ensaio, de julho de 2000.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 14652 - Coletor-transportador rodoviário de resíduos de serviços de saúde, de abril de 2001.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 14725 - Ficha de informações de segurança de produtos químicos – FISPQ, de julho de 2001.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Laboratório Clínico - Requisitos de segurança NBR 14785:2001. Rio de Janeiro, 2001.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Sistema de Gestão da Qualidade – Requisitos. NBR ISO 9001:2008. Rio de Janeiro, 2008.
- BRASIL. Lei nº 6.019, de 3 de janeiro de 1974. Dispõe sobre o Trabalho Temporário nas Empresas Urbanas, e dá outras Providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 4 de janeiro de 1974.
- BRASIL. Lei nº 7.102, de 20 de junho de 1983. Dispõe sobre Segurança para Estabelecimentos Financeiros, Estabelece Normas para Constituição e Funcionamento das Empresas Particulares que Exploram Serviços de Vigilância e de Transporte de Valores, e dá outras Providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 21 de junho de 1983.

- BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. Instrução Normativa CTNBio nº7 de 06 de junho de 1997.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC ANVISA nº50/2002. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/50_02rdc.pdf [21 junho 2009].
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, RDC ANVISA nº. 306 07/12/2004. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=13554> [21 junho 2009].
- BRASIL. Ministério da Saúde. Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com material biológico, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de Apoio aos Gestores do SUS: organização da rede de laboratórios clínicos. Brasília, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria SVS/MS 344 de 12 de maio de 1998 - Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº237 de 22 de dezembro de 1997 - Regula os aspectos de licenciamento ambiental estabelecidos na Política Nacional do Meio Ambiente.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº257 de 30 de junho de 1999 - Estabelece que pilhas e baterias que contenham em suas composições chumbo, cádmio, mercúrio e seus compostos, tenham os procedimentos de reutilização, reciclagem, tratamento ou disposição final ambientalmente adequados.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº275, de 25 de abril de 2001- Estabelece código de cores para diferentes tipos de resíduos na coleta seletiva.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº283 de 12 de julho de 2001- Dispõe sobre o tratamento e a destinação final dos resíduos dos serviços de saúde.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº5 de 05 de agosto de 1993 - Estabelece definições, classificação e procedimentos mínimos para o gerenciamento de resíduos sólidos oriundos de serviços de saúde, portos e aeroportos, terminais ferroviários e rodoviários.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº6 de 19 de setembro de 1991 - Dispõe sobre a incineração de resíduos sólidos provenientes de estabelecimentos de saúde, portos e aeroportos.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº305 de 14 de novembro de 2002 - Ficam proibidos, em todo o território nacional, enquanto persistirem as condições que configurem risco à saúde, o ingresso e a comercialização de matéria-prima e produtos acabados, semi-elaborados ou a granel para uso em seres humanos, cujo material de partida seja obtido a partir de tecidos/fluidos de animais ruminantes, relacionados às classes de medicamentos, cosméticos e produtos para a saúde, conforme discriminado.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº306, de 07 de dezembro de 2004. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=13554> [21 junho 2009].
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº33, de 25 de fevereiro de 2003. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/33_03rdc.htm [21 junho 2009].

- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº50, de 21 de fevereiro de 2002 - Dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº302/2005, de 13 de Outubro de 2005 – Diário Oficial da União de 14 de outubro de 2005. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=19176&word> [21 junho 2009].
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Projeto REFORSUS. Gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Brasília, Ministério da Saúde, 2001
- BRASIL. Ministério do Trabalho. Norma Regulamentadora NR 32 - SEGURANÇA E SAÚDE NO TRABALHO EM SERVIÇOS DE SAÚDE. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/nr_32.pdf [21 junho 2009].
- ESTADO DE SÃO PAULO. Centro de Vigilância Sanitária, Coordenação dos Institutos de Pesquisa da Secretaria de Estado da Saúde. PORTARIA CVS-01, de 18 de Janeiro de 2000. Diário oficial do Estado de São Paulo. Volume 110, Número 35, São Paulo, 19 de fevereiro de 2000. Disponível em: <http://www.cvs.saude.sp.gov.br> [21 junho 2009].
- ESTADO DE SÃO PAULO. Centro de Vigilância Sanitária, Coordenação dos Institutos de Pesquisa da Secretaria de Estado da Saúde. PORTARIA CVS-13, de 04 de Novembro de 2005. Disponível em <http://www.cvs.saude.sp.gov.br> [21 junho 2009].

Referências Normativas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI/NCCLS)

- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. (CLSI/NCCLS). Ionized Calcium Determinations: Precollection Variables, Specimen, Collection and Handling; Approved Guideline. CLSI/NCCLS document C31-A2 Vol.21, N°10. Wayne, PA USA:NCCLS,2001.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE(CLSI/ NCCLS). Control of Preanalytical Variation in Trace Element Determinations; Approved Guideline. CLSI/NCCLS document C38-A Vol.17 N°13 (Replaces C38-P Vol.14 N°23). Wayne, PA USA:NCCLS, 2003.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE(CLSI/ NCCLS). Blood Gas and pH Analysis and Related Measurements; Approved Guideline-Second Edition. CLSI/NCCLS document C46-A2 Vol.29 N°8 (Replaces C46-A Vol.21 N°14). Wayne, PA USA:NCCLS, 2009.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE(CLSI/ NCCLS). Tubes and Additives for Venous Blood Specimen Collection; Approved Standard-Fifth Edition.CLSI/NCCLS document H1-A5 Vol.23 N°33 (Replaces H1-A4 Vol.16 N°13).Wayne, PA USA:NCCLS, 2003.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE(CLSI/ NCCLS). Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard - Sixth Edition. CLSI/NCCLS document H3-A6 Vol.27 N°26 (Replaces H3-A5 Vol.23 32). Wayne, PA USA:NCCLS, 2008.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE(CLSI/ NCCLS).– Procedures for the Collection of Arterial Blood Specimens; Approved Standard-Fourth

- Edition. CLSI/NCCLS document H11-A4 Vol.24 N°28 (Replaces H11-A3 Vol.19 N°8). Wayne, PA USA:NCCLS, 2004.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE(CLSI/ NCCLS) – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline - Third Edition. CLSI/NCCLS document H18-A3 Vol.24 N°38 (Replaces H18-A2 Vol.19 N°21). Wayne, PA USA:NCCLS, 2004.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE(CLSI/ NCCLS). Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition. CLSI/NCCLS document H21-A5 Vol.28 N°5 (Replaces H21-A4 Vol.23 N°35). Wayne, PA USA:NCCLS, 2008.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE(CLSI/ NCCLS). Ionized Calcium Determinations: Pre-collection Variables, Specimen Choice, Collection, and Handling; Approved Guideline-Second Edition. CLSI/NCCLS document H31-A2 Vol.21 N°10 (Replaces H31-A Vol.15 N°20). Wayne, PA USA:NCCLS, 2008.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. CLSI/NCCLS). Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. CLSI/NCCLS document M47-A Vol.27 N°17 (Replaces M47-P Vol.26 N°31). Wayne, PA USA:NCCLS, 2007.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. (CLSI/NCCLS). A - Infobase: Collection, Transport, Preparation and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI/NCCLS document MM13 Vol.25 N°31. Wayne, PA USA:NCCLS, 2008.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. (CLSI/NCCLS). Implementing a Needlestick and Sharps Injury Prevention Program in the clinical Laboratory; A Report. NCCLS document X3-R. Wayne, PA USA:NCCLS, 2002.

Referências Bibliográficas Consultadas e Recomendadas

- ADCOCK, D.M.; KRESSIN, D.C.; MARLAR, R.A.; Are discard tubes necessary in coagulation studies? Lab Med. 28:530-533, 1997.
- ADCOCK, D.M.; KRESSIN, D.C.; MARLAR, R.A. The effect of time and temperature variables on routine coagulation tests. Blood Coag Fibrinolysis. 9:463-470, 1998.
- Anticoagulant Citrate Phosphate Dextrose Adenine Solution, p.101-102, The United States Pharmacopeia, The National Formulary, USP XXII, NF XVII, 1990, United States Pharmacopeia Convention, Inc., Rockville, MD, USA.
- ARONSON, M.D.; BOR, D.H. Blood cultures. Ann Intern Med. 106:246-53, 1987.
- AWAR, M.A.; SELIM, T.E.; AL-SABBAGH, F.A. Influence of storage time and temperature on international normalized ratio (INR) levels and plasma activities of vitamin K dependent clotting factors. Hematol. 9:333-337, 2004.
- BAMBERG, R.; COTTLE, J.; WILLIAMS, J. Effect of drawing a discard tube on PT and APTT results in healthy adults. Clin Lab Sci. 16(1):16-19, 2003.
- BARTLETT, J.G.; DICK, J. The controversy regarding routine anaerobic blood cultures. Am J Med. 108(6):505-506, 2000.
- BONINI, P.; PLEBANI, M.; CERRIOTI, F. RUBBOLI, F. Errors in laboratory medicine. Clin Chem. 48(5): 691-698, 2002.

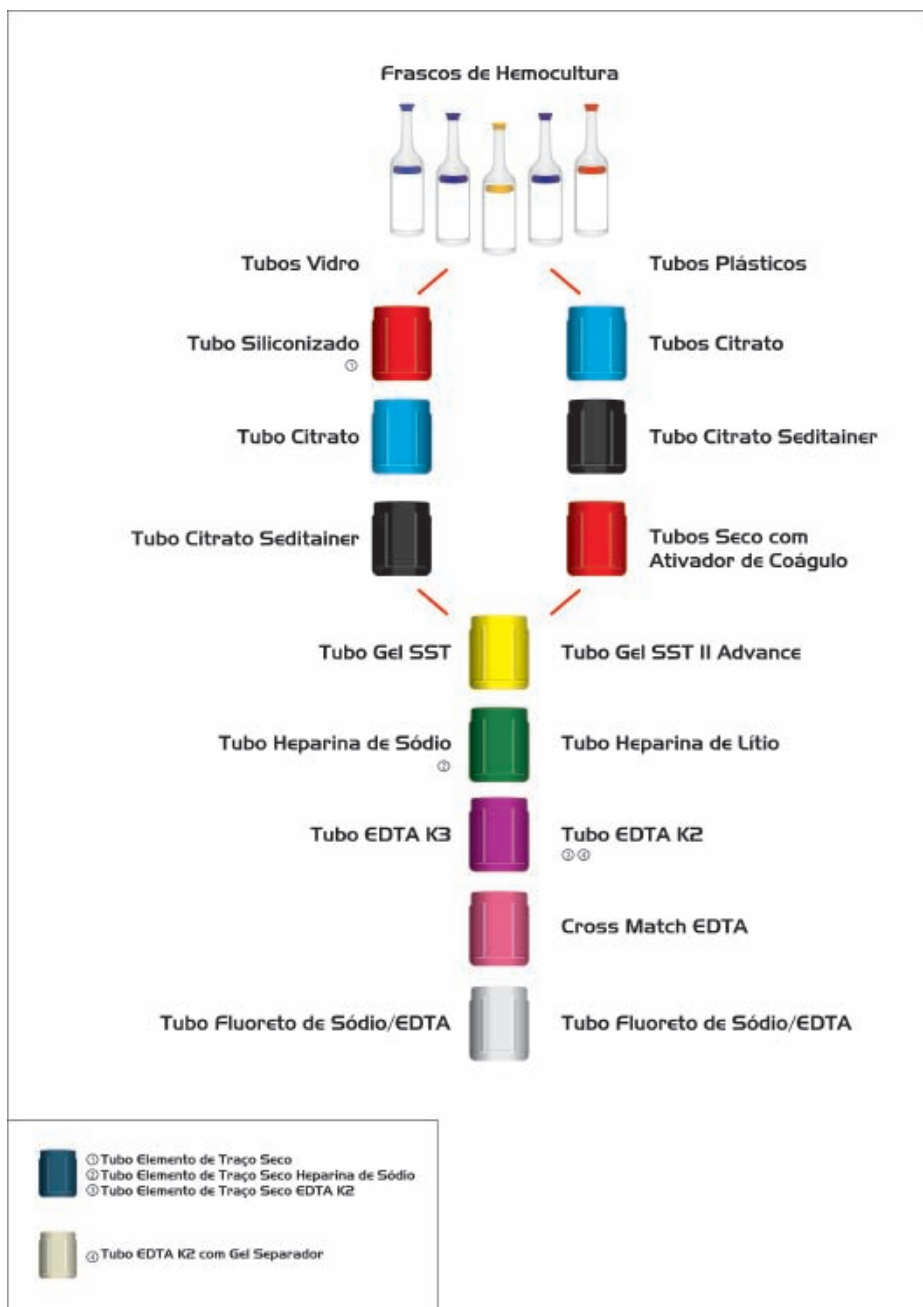
- BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D.E. (Eds) - Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 5th edition. Elsevier Saunders, St Louis, 2006.
- CALVO, M.; EASTELL, R.; OFFORD, K.P.; BERGSTRALH, E.J.; BURRITT, M.F. Circadian variation in ionized calcium and intact parathyroid hormone: evidence for sex differences in calcium homeostasis. *J Clin Endocrinol Metabol.* 72:69-76,1991.
- CARVALHO, P. R. Boas Práticas Químicas em Biossegurança. Rio de Janeiro: Interciência, 1999.
- CDC GUIDELINE FOR HAND HYGIENE IN HEALTHCARE SETTINGS. RECOMMENDATIONS OF THE HEALTHCARE INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE AND THE HICPAC/SHEA/APIC/IDSA HAND HYGIENE TASK FORCE. *MMWR.* 51(RR16):31-34, 2002.
- COCKERILL, F.R. III; WILSON, J.W.; VETTER, E.A. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis.* 38:1724-1730, 2004.
- CHANG, J.; SADLER, M.A.; WITT, D.M. Impact of evacuated collection tube fill volume and mixing on routine coagulation measures using 2,5 mL pediatric tubes. *Chest.* 126:1262-1266, 2004.
- College of American Pathologists – Laboratory general CHECKLIST. Disponível em <http://www.cap.org> [21 junho 2009].
- CONTANT, G.; GOUAULT-HEILMANN, M.; MARTINOLI, J. Heparin inactivation during blood storage:its prevention by blood collection in citric acid, theophylline,adenosine,dipyridamole-C.T.A.D. mixture. *Throm Res.* 31:365-374,1983.
- COSTA, M. A. F.; COSTA, M. F. B.; MELO, N. S. F. O. Biossegurança – Ambientes Hospitalares e Odontológicos. São Paulo: Livraria Santos Editora Ltda., 2000.
- DIVISION OF ENVIRONMENTAL HEALTH AND SAFETY. Photographic Materials: Safety issues and disposal procedures. Florida: University of Florida. Disponível em: <http://www.ehs.ufl.edu> [21 junho 2009].
- DUBOWSKI, K.M.; ESSARY, N.A. Contamination of blood specimens for alcohol analysis during collection. *Abst Rev Alchol Driving.* 4:3-7, 1983.
- ERNEST, D. Four indefensible phlebotomy errors. *J Healthcare Risk Mgmt.* 18(2):41-45,1998.
- ERNST, D. J. Controlling blood-culture contamination rates. *MLO*, march 2004.
- FIOCRUZ. Biossegurança em Laboratórios de Saúde Pública. Brasília: Ministério da Saúde, 1988.
- GOTTFRIED, E.L.; ADACHI, M.M. Prothrombin time and activated partial thromboplastin time can be performed on the first tube. *Am J Clin Pathol.* 107:681-683,1997.
- GRAVINA, P. Impact of storage conditions on genetic analysis or viral load determination in clinical specimens. *Clin Chem Lab Med.* 46(2):280-282, 2008.
- GUDER, W. G.; NARAYANAN, S.; WISSER, H.; et al. Samples: From the Patient to the laboratory. The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results. Darmstadt, Cit Verlag GMBH, 2nd ed., 2001.
- GUIDI, G.C.; SALVAGNO, G.L.; MONTAGNANA, M.; FRANCHINI, M.; LIPPI, G. Venous blood stasis during venipuncture influences routine hematologic testing. *Clin Chem* 2006. 52(Suppl):A24-A25.
- ISHIDA, M.; SEINO, Y.; YAMAOKA, K.; TANAKA, Y.; SATOMURA, K.; KUROSE, Y.; YABUNCHI, H. The circadian rhythms of blood ionized calcium in humans. *Scand J Clin Lab Invest.* 43(suppl 165):83-86,1983.

- HIRATA, M. H.; MANCINI FILHO, J. Manual de Biossegurança. São Paulo: Editora Manole, 2002.
- INTERNATIONAL COMMITTEE FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY. Recommendation for measurement of erythrocyte sedimentation rate of human blood. *Am J Clin Pathol* 1977. 68(4):505-507.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 6710.2 / 2002- Single-use containers for human venous blood specimen collection. [revision of first edition(6710:1995)].
- KALLNER, A; MANELL, P.; JOHANSSON, S. Drugs Interference and Effects in Clinical Chemistry – 3rd ed., Ab Realtryck, Stockholm, 1984.
- KELLOGG, J.A. Selection of a clinically satisfactory blood culture system: The utility of anaerobic media. *Clin Microbiol News*. 17:121-124, 1995.
- LAXSON, C.J.; TITLER, M.G. Drawing coagulation studies from arterial lines:an integrative literature review. *Am J Crit Care*. 1:16-24,1994.
- LANDT, M.; HORTIN, G.L.; SMITH, C.H.; MCCLELLAN, A.; SCOTT, M.G. Interference in ionized calcium measurements by heparin salts. *Clin Chem*. 40:565-570, 1994.
- LARSON, L; OHMAN, S. Effect of silicone-separator tubes and storage time on ionized calcium in serum. *Clin Chem*. 31:169-170,1985.
- LEE, G. R.; BITHELL, T. C.; FOERSTER, J. et al. (eds). Wintrobe's Clinical Hematology. 9th ed, Lea & Febiger, Philadelphia, 1993.
- LEEMING, D.R.; CRAIG, S.; STEVENSON, K.J.; TABERNER, D.A. The determination of INR in stored whole blood. *J Clin Pathol*. 51(5):360-363,1998.
- LI, J.; PLORDE, J.J.; CARLSON, L.G. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol*. 32(11):2829-2831,1994.
- LIMA OLIVEIRA, G.S.; PICHETH, G.; ASSAN, N.K.; FERREIRA, C.E.S.; MANGUEIRA, C.L.P.; SUMITA, N.M.; SCARTEZINI, M. The effects of tourniquet application vs. subcutaneous tissue transilluminator device in blood sample collection on hematological parameters. *Clin Chem*. 53(Suplement 6):A123, 2007.
- LIPPI, G.; BASSI, A.; BROCCO, G.; MONTAGNANA, M.; SALVAGNO, G.L.; GUIDI, G.C. Preanalytic error tracking in a laboratory medicine department: results of a 1-year experience. *Clin Chem*. 52(7):1442-1443, 2006.
- LIPPI, G.; MONTAGNANA, M.; SALVAGNO, G.M.; GUIDI, G.C. Interference of blood celllysis on routine coagulation testing. *Arch Pathol Lab Med*. 130:181-184, 2006.
- MARLAR, R.A.; POTTS, R.M.; MARLAR, A.A. Effects on routine and special coagulation testing values of citrate anticoagulant adjustment in patients with high hematocrit values. *Am J Clin Pathol*. 126:400-405, 2006.
- McCALL, R. E.; TANKERSLEY, C. M. Phlebotomy Essentials. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 3rd ed., 2003.
- MCGLASSON, D.L.; MORE, L.; BEST, H.A.; NORRIS, W.L.; DOE, R.H.; RAY, H. Drawing pecimens for coagulation testing:Is a second tube is necessary? *Clin Lab Sci*. 12(3):137-139,1999.
- McPHERSON R. A. and PINCUS, M. R. HENRY'S, Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Saunders Elsevier 21st ed 2007.
- MENDES, M.E.; GARTNER, M.T.; SUMITA, N.M.; SÁNCHEZ, P.B. Gestão por processos no Laboratório Clínico – Uma abordagem prática.1^o ed., EPR Editora, São Paulo, SP, 2007.

- MENDYKA, B.E.; CLOCHESY, J.M.; WORKMAN, M.L. Latex hypersensitivity:an iatrogenic and occupational risk. *Am J Crit Care*. 3:198-201,1994.
- MOYER, T.P.; MUSSMAN, G.V.; NIXON, D.E. Blood collection device for trace and ultra trace metal specimens evaluated. *Clin Chem*. 37(5):709-714,1991.
- NOVIS, D.A.; WALSH, M.K.; DALE, J.C.; HOWANITZ, P.J. Continuous monitoring of stat and routine outlier turnaround times: two College of American Pathologists Q-TRACKS monitors in 291 hospitals. *Arch Pathol Lab Med*. 128:621-626, 2004.
- ONO, T.; KITABUCHI, K.; TAKEHARA, M.; SHIIBA, M.; HAYAMI, K. Serum constituents analyses: effect of duration and temperture of storage of clotted blood. *Clin Chem*. 27:35-38,1981.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Departamento de Enfermidades Transmissíveis Vigilância e Resposta. Transporte de substâncias infecciosas, 13ª edição, 2004.
- OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica, 2ª edição, Ed. Sarvier, 2004.
- PETERSON, P.; GOTTFRIED, E.L. The effects of inaccurate blood sample on prothrombin time (PT) and actived partial thromboplastin time(aPTT). *Thromb Haemost*. 47:101-103,1982.
- PLEBANI, M. Errors in Clinical Laboratories or Errors in Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med*. 44(6): 750-759, 2006.
- PLEBANI, M. Laboratory network of excellence: enhancing patient safety and service effectiveness. *Clin Chem Lab Med*. 44(2):150–160, 2006.
- Recommended methodology for using WHO International Reference Preparations for tromboplastin, 1983, WORLD HEALTH ORGANIZATION, Geneva, Switzerland.
- RENOE, B.W.; MCDONALD, J.M.; LANDENSON, J.H. The effects os stasis with and without exercise on free calcium,various cations, and related parameters. *Clin Chim Acta*. 103:91-100,1980.
- RELLER, L.B.; MURRAY, P.R.; MAC LOWRY, J.D. Cumitech IA, Blood cultures II. Coordinating ed., American Society for Microbiology, Washington,D.C. 1982.
- RILEY, J.A.; HEITER, B.J.; BOURBEAU, P.P. Comparison of recovery of blood culture isolates from two BacT/ALERT FAN aerobic blood culture bottles with recovery from one FAN aerobic bottle and one FAN anaerobic bottle. *J Clin Microbiol*. 41(1):213-217, 2003.
- RICHMOND, J. Y.; MCKINNE, R. W. Organizado por Ana Rosa dos Santos, Maria Adelaide Millington, Mário César Althoff. Biossegurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia - CDC. Brasília. Ministério da Saúde, 2000.
- RICHTER, S. S. et al. Minimizing the workup of blood culture contaminants: implementation and evaluation of a laboratory-based algorithm. *J Clin Microbiol*. 7:2437-2444, 2002.
- RICO'S, C. Quality indicators and specifications for the extra-analytical phases in Clinical laboratory management. *Clin Chem Lab Med*. 42(6):578–582, 2004.
- ROTTER, M. L. Arguments for alcoholic hand disinfection. *J Hosp Infect*. 48 (Supplement A): S4-S8, 2001.
- RUHE, J.; MENON, A.; MUSHATT, D.; DEJACE, P.; HASBUN, R. Non-epidermidis coagulase-negative staphylococcal bacteremia: clinical predictors of true bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 23(6):495-498, 2004.

- SACHS, C.; RABOUINE, P.; CHANEAC, M.; KINDERMANS, C.; DECHAUX, M.; FALCH-CHRISTIANSEN, T. Preanalytical errors in ionized calcium measurements induced by the use of liquid heparin. *Ann Clin Biochem.* 28:167-173,1991.
- SERIN, E.; BUGDAYEI, G. Effect of tube filling order on specific coagulation parameters in health subjects. *Lab Med.* 38:556-558, 2007.
- SIEGEL, J.E.; SWAMI, V.K.; GLENN, P.; PETERSON, P. Effect (or lack of it) of severe anemia on PT and APTT results. *Am J Clin Pathol.* 110:106-110,1998.
- SIEGMAN-INGRA, Y.; ANGLIN, A.M.; SHAPIRO, D.E.; ADAL, K.A.; STRAIN, B.A.; FARR, B.M. Diagnosis of vascular catheter-related bloodstream infection: a meta-analysis. *J Clin Microbiol.* 35:928-936,1997.
- SILBERT, S.; ROSA, D.D.; MATTE, U.; GOLDIM, J.R.; BARCELLOS, S.H.; PRONCIA-NOY, R.S. *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa em hemoculturas de pacientes com menos de sessenta dias de idade: infecção versus contaminação. *J Pediatr.* 73(3):161-165,1997.
- SILVA, E.; OTHERO, J.; SOGAYAR, A.C.B. Consenso brasileiro de sepse. Disfunção de múltiplos órgãos. Disponível em <http://www.laadi.unifesp.br/2.pdf> [21 junho 2009].
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Programa para Acreditação de Laboratórios Clínicos – PALC. Norma PALC Versão 2007. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320070815172544.pdf> [21 junho 2009].
- SOUVENIR, D.; ANDERSON JR, D.E. ; PALPANT, S. ; MROCH, H. ; ASKIN, S. ; ANDERSON, J.; CLARIDGE, J.; EILAND, J.; MALONE, C.; GARRISON, M.W.; WATSON, P.; CAMPBELL, D.M. Blood cultures positive for coagulase-negative Staphylococci: antisepsis, pseudobacteremia, and therapy of patients. *J Clin Microbiol.* 36(7):1923-1926,1998.
- STANLEY, M.; WEINSTEIN, M.P.; REIMER, L.G.; WILSON, M.L.; BARTH RELLER, L. Relevance of the number of positive bottles in determining clinical significance of coagulase-negative Staphylococci in blood cultures. *J Clin Microbiol.* 39(9):3279-3281, 2001.
- STEINDEL, S.J. Evaluation of a thrombin-containing blood-collection tube. *Clin Chem.* 26:173-174,1980.
- STRAND, C.L. Blood Cultures: Consensus recommendations in 1988. Microbiology no. MB 88-1 (MB172). American Society for Clinical Pathologists Check Sample Continuing Education Program. Chicago: American Society for Clinical Pathologists, 1988.
- THE ASSOCIATION FOR PRACTITIONERS IN INFECTION CONTROL, INC.- Position Paper: Medical Waste (revised). *Am J Infect Control* 1992. 20(2):73-74.
- THODE, J.; FOGH-ANDERSEN, N.; AAS, F.; SIGGAARD-ANDERSEN, O. Sampling and storage of blood for determination of ionized calcium. *Scand J Clin Lab Invest.* 45:131-138,1985.
- TOFFALETTI, J.; BLOSSER, N.; KIRVAN, K. Effect of storage temperature and time before centrifugation on ionized calcium in blood collected in plain vacutainer tubes and silicone-separator (SST) tube. *Clin Chem.* 30:553-556,1984.
- TOFFALETTI, J.; ABRAMS, B. Effects of in vivo and in vitro production of lactic acid on ionized, protein-bound, and complex-bound calcium in blood. *Clin Chem.* 35:935-938,1989.

- TOFALETTI, J. Use of novel preparations of heparin to eliminate interference in ionized calcium measurements: Have all the problems been solved? *Clin Chem.* 40(editorial):508-509,1994.
- TOFALETTI, J.; THOMPSON, T. Effects of blended lithium-zinc heparin on ionized calcium and general clinical chemistry tests. *Clin Chem.* 41(letter):328-329,1995.
- THOMSON, R.B.; EVANS, B.L.; SOUTHELAND, J.L. Generalist microbiology tech sample No. G-1 Tech Sample. American Society of Clinical Pathologists, Chicago, 1991.
- TRIPODI, A.; ELSECCHI, C.; CHANTARANGKUL, V.; BATTAGLIOLI, T.; MANNUCCI, P.M. Standardization of activated protein C resistance testing: effects of residual platelets in frozen plasmas assessed by commercial and home-made methods. *Brit J Haematol.* 120:825-828, 2003.
- VAN GEEST-DAALDEROP, J.H.; MULDER, A.B.; BOONMAN-DE WINTER, L.J.; HOEKSTRA, M.M.; VAN DEN BESSELAAR, A.M.H.P. Preanalytical variables and off-site blood collection: influences on the results of the prothrombin time/ international normalized ratio test and implications for monitoring of oral anticoagulant therapy. *Clin Chem.* 51(3):561-568, 2005.
- VAN DEN BESSELAAR, A.M.H.P.; MEEUWISSE-BRAUN, J.; JANSEN-GRUTER, R.; BERTINA, R.M. Monitoring heparin therapy by the activated partial thromboplastin time - the effect of pre-analytical conditions. *Thromb Haemost.* 57:226-231,1987.
- WASHINGTON, J.A. Blood Cultures: principles and techniques. *Mayo Clin Proced.* 50:91-95,1975.
- WALTZMAN, M.; HARPER, M. Financial and clinical impact of false-positive blood culture results. *Clin Infect Dis.* 33:296-299, 2001.
- WEINSTEIN, M. P. Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *J Clin Microbiol.* 41(6):2275-2278, 2001.
- WEINSTEIN, M.P. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology, and interpretation of results. *Clin Infect Dis.* 23:40-46,1996.
- WEINSTEIN, M.P.; RELLER, L.B.; MURPHY, J.R.; LICHTENSTEIN, K.A. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis.* 5(1):35-53,1983.
- YAWN, B.; LOGE, C.; DALE, J. Prothrombin time, one tube or two. *Am J Clin Pathol.* 105:794-797,1996.
- YOUNG, D. S. (ed) - Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th edition, AACC Press, Washington, 1995.
- YOUNG, D. S. (ed) - Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd edition, AACC Press, Washington, 1997.
- YOUNG, D. S.; BERMES, E. W. Specimen collection and processing sources of biological variation. In: Burtis, C.A.; Ashwood, E.R., ed. Tietz textbook of clinical chemistry. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 3rd. ed., 1999. p. 42-72.
- YOUNG, D. S.; FRIEDMAN, R. B. (eds) - Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests. 4th edition, AACC Press, Washington, 2001.



Apoio



www.bd.com/brasil/vacutainer
consultoria_vacutainer@bd.com



ISBN 978-85-98416-94-6

