



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

## ESTABILIDADE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA EXAMES BIOQUÍMICOS<sup>1</sup>

**Paula Schubert<sup>2</sup>, Hiandra Chaves<sup>3</sup>, Joice Nedel Ott<sup>4</sup>, Karla Renata de Oliveira<sup>5</sup>.**

<sup>1</sup> Estágio não obrigatório no UNILAB

<sup>2</sup> Acadêmica do Curso de Graduação em Farmácia, Departamento de Ciências da Vida – DCVida, UNIJUI, paula@luanett.com.br

<sup>3</sup> Acadêmica do Curso de Graduação em Farmácia, Departamento de Ciências da Vida – DCVida, UNIJUI, hiandrac@yahoo.com

<sup>4</sup> Farmacêutica Responsável Técnica pelo UNILAB, joice.ott@unijui.edu.br

<sup>5</sup> Farmacêutica, Mestre, Docente do DCVida - UNIJUI, karla@unijui.edu.br

**Resumo:** De acordo com a legislação vigente, os laboratórios clínicos devem garantir a rastreabilidade de todas as análises realizadas. Para tanto, deve ser criado um sistema de armazenamento de amostras que possibilite rastrear qualquer amostra coletada, servindo, na prática, para evitar novas coletas em caso de solicitação de novos exames ou contraprovas, para posterior conferência dos resultados. Com o objetivo de determinar o período de estabilidade de amostras de sangue, mais especificadamente de soro, para as análises realizadas pelo UNILAB, realizou-se um estudo observacional, descritivo e documental. Os dados foram coletados a partir das bulas dos principais testes bioquímicos realizados no Laboratório Escola da Unijui. Verificou-se que, embora a legislação estabeleça o armazenamento por um período de tempo de até cinco anos, em casos de amostras provenientes de projetos de pesquisa, a estabilidade máxima, encontrada nos testes investigados, foi de 180 dias, de -10 a -20°C.

**Palavras-chave:** Rastreabilidade; Armazenamento; Sangue; Soroteca; Ética.

### Introdução

A multiplicidade de distintos processos interrelacionados e a variedade de matrizes analisadas constituem a complexa rotina de um laboratório de análises clínicas. A principal finalidade dos exames laboratoriais é reduzir as dúvidas que a história clínica e o exame físico fazem surgir no raciocínio médico, culminando na correlação clínico-laboratorial e na exata interpretação dos resultados (SBPC/ML, 2010).

A garantia da qualidade dos exames laboratoriais está relacionada a um conjunto de atividades planejadas, sistematizadas e implementadas com o objetivo de cumprir os requisitos especificados. De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada, RDC 302/2005, a direção e o responsável técnico do laboratório clínico têm a responsabilidade de planejar, implementar e garantir a qualidade, incluindo a rastreabilidade de todos os seus processos (BRASIL, 2005a).

Neste caso, a rastreabilidade compreende a capacidade de recuperação do histórico, da aplicação ou da localização de uma amostra específica, por meio de identificações registradas. Para quaisquer que





**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

sejam os exames a serem realizados é importante a identificação do paciente e dos tubos nos quais será depositada a amostra. Além disso, 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 (SBPC/ML, 2010).

Nesse sentido, depois do processamento do material biológico coletado, uma alíquota da amostra de cada paciente deve ser armazenada, por um determinado período de tempo. A possibilidade de rastrear qualquer amostra coletada serve, na prática, para evitar novas coletas em casos de solicitação de novos exames, ou contraprovas, para posterior conferência dos resultados.

Isso significa que, após a realização dos exames laboratoriais, nem todos os materiais biológicos são descartados. De acordo com o Plano de Gerenciamento de Resíduos dos laboratórios, amostras de sangue total, plasma, urina e fezes são descartadas após processamento adequado (BRASIL, 2004). Já o soro, material proveniente da centrifugação do sangue coletado sem anticoagulante, é armazenado por um determinado período de tempo, constituindo a “soroteca” do laboratório.

A inquietude, quanto ao fato, é justamente o tempo correto de armazenamento e estabilidade das amostras após longos períodos de tempo, ou seja, se depois do descongelamento haverá reprodutibilidade dos resultados encontrados inicialmente. Neste sentido, objetivou-se realizar uma pesquisa sobre o tempo de armazenamento de amostras biológicas, mais especificadamente, de hemocomponentes, a fim de esclarecer qual o período e a temperatura recomendados que garantam a estabilidade da amostra, para eventual reanálise.

### Metodologia

Foi realizado estudo observacional descritivo, documental, em que os dados foram coletados a partir de bulas de testes laboratoriais realizados pelo UNILAB – Laboratório de Análises Clínicas da Unijuí. Os testes utilizados para o estudo dizem respeito a dosagens bioquímicas realizadas pelo UNILAB. As solicitações atendidas neste laboratório são emitidas pelo médico do trabalho da Instituição, tratando-se de exames admissionais, demissionais e periódicos. Os dados obtidos foram organizados e tabulados em planilhas do Microsoft Excel®, para facilitar a análise dos diferentes períodos de estabilidade, em relação a cada tipo de teste realizado, bem como a temperatura de armazenamento.

### Resultados e discussão

Uma grande parcela de exames laboratoriais é realizada a partir de amostras de sangue. Assim sendo, dependendo da análise solicitada, o exame poderá ser realizado com sangue total, soro ou plasma. Quando a análise for realizada no soro, este será obtido através da coleta em tubo sem anticoagulante, para que ocorra o processo de coagulação. Quando se pretende fazer a análise no plasma, a amostra deverá ser colhida em tubo de ensaio contendo anticoagulante específico, que irá inibir um dos fatores da coagulação impedindo assim a formação do coágulo (HENRY, 2008).

Algumas substâncias podem ser dosadas tanto no soro quanto no plasma. Para determinar o tipo de amostra a ser utilizado em cada teste, bem como a estabilidade quanto ao seu resfriamento e/ou congelamento, elaborou-se uma tabela com os treze principais exames bioquímicos realizados pelo UNILAB (Figura 01).



# SALÃO DO CONHECIMENTO

XX Seminário de Iniciação Científica II Mostra de Iniciação Científica Júnior  
XVII Jornada de Pesquisa II Seminário de Inovação e Tecnologia  
XIII Jornada de Extensão

2012



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica

Resfriamento Temperatura indicada (em °C)	Estabilidade		Amostras que podem ser utilizadas na análise bioquímica	Teste		
	Período	Congelamento Temperatura a indicada (em °C)				
2 a 8	Vários meses	---	---	Soro ou plasma (heparina)	Amilase	
	Vários meses	---	---	Soro ou plasma (fluoreto, oxalato, heparina, EDTA)	Uréia	
			- 20	30 dias	Soro ou plasma (heparina-lítico ou EDTA)	Colesterol HDL
			- 20	180 dias	Soro	Colesterol total
	7 dias	---	---	Soro ou plasma (heparina, EDTA, fluoreto, oxalato e citrato)	Creatinina K	
			- 20	60 dias	Soro ou plasma (EDTA)	Gama GT
	4 dias	- 10	- 10	14 dias	Soro ou plasma (EDTA, heparina)	TGO
			- 10	14 dias	Soro ou plasma (EDTA, heparina)	TGP
	3 dias	---	---	---	Soro ou plasma (antiglicolítico)	Glicose*
			- 10	180 dias	Soro	Ácido úrico
		- 10	7 dias	Soro	Albumina	
2 dias	---	---	---	Soro ou plasma (EDTA)	Triglicérides	
12 horas	< 0	< 0	24 horas	Soro	Bilirrubina direta e total	

\*Quando não há contaminação microbiana.  
TGO = transaminas e glutâmico-oxalacética. TGP = transaminas e glutâmico-pirúvica.

Figura 01: Estabilidade de amostras, de acordo com o exame a ser realizado, em relação ao tempo de resfriamento e congelamento.

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. Segundo a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, os resultados em plasma são mais representativos do estudo in vivo, quando comparados aos do soro, além de que 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 desvantagens referem-se, principalmente, a alteração da eletroforese de proteínas e potencial interferência método-dependente pelo fato dos anticoagulantes serem agentes complexantes e inibidores enzimáticos (SBPC/ML, 2010). Independente do tipo de amostra utilizada, estas devem ser representativas, ou seja, devem ter sua composição e integridade mantidas durante as fases pré-analíticas de coleta, manuseio, transporte e eventual armazenagem. A estabilidade de cada analito depende de sua viabilidade na amostra, temperatura e tempo a ser analisado. Assim, a estabilidade de uma amostra é definida pela capacidade dos seus elementos se manterem nos valores iniciais, dentro de limites de variação aceitáveis, por um determinado período de tempo (SBPC/ML, 2010).

A Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial determina que a medida da instabilidade de uma amostra pode ser definida como sendo uma diferença absoluta, ou seja, pela variação dos valores inicial e final, expressa na unidade em que um determinado parâmetro é medido; como um quociente, calculado pela razão entre o valor obtido após um determinado tempo e o valor



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

obtido no momento em que a amostra foi coletada, ou ainda como uma porcentagem de desvio (SBPC/ML, 2010).

De acordo com a RDC 302/05, se estabelece que os laboratórios clínicos devam possuir instruções escritas dos procedimentos que preconizam as condições necessárias a estocagem e armazenamento de amostras, de forma a garantir a manutenção de sua integridade para posterior análise, transporte, terceirização, reanálise ou aceitação de pedido para adição de novos exames a mesma amostra (BRASIL, 2005a).

Para isso, é recomendável consultar as instruções do conjunto diagnóstico e verificar a sensibilidade e a especificidade para a detecção do analito a ser dosado. Recomenda-se que cada serviço estabeleça sua política de armazenamento de materiais biológicos (SBPC/ML, 2010).

No UNILAB as amostras de soro, provenientes das análises realizadas diariamente são armazenadas em endorffs, estocados em freezer à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , por um período de um ano. No entanto, para as amostras de pacientes que fazem parte de projetos de pesquisa, é respeitada a Resolução 347/05 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), que estabelece normas mínimas para o uso e armazenamento de materiais biológicos no âmbito de pesquisa, prevendo armazenamento de até cinco anos (BRASIL, 2005b).

Quando em projetos de pesquisa forem utilizados materiais biológicos humanos, além dos pontos previstos na Resolução CNS 196/96, o material biológico deverá ser armazenado sob a responsabilidade da instituição depositária. A pesquisa deverá ter norma ou regulamento aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), incluindo a definição dos responsáveis pela guarda e pela autorização de uso do material, além de mecanismos que garantam sigilo, respeito à confidencialidade e que assegurem a possibilidade de contato com os doadores para fornecimento de informação de seu interesse ou para a obtenção de consentimento específico para uso em novo projeto de pesquisa (BRASIL, 1996).

Fica claro, assim, que existem muitos aspectos éticos relacionados a manutenção das sorotecas, principalmente quanto à autonomia do sujeito da pesquisa e sobre a exclusividade do uso do material biológico e dos dados obtidos para a finalidade prevista no protocolo da pesquisa (GAZE et al., 2006). No entanto, a determinação do período de tempo de armazenamento estabelecido pela legislação é muito além do período de estabilidade previsto nas instruções dos reagentes a serem utilizados no processamento das amostras. Portanto, acredita-se que as interrogações quanto a estabilidade destas amostras após o descongelamento, depois de longo período de tempo, não é elucidada na literatura consultada.

## Conclusões

A estocagem de material biológico para fins de pesquisa, revisão diagnóstica e capacitação de profissionais de saúde é efetuada há longo tempo. Com o desenvolvimento das técnicas de refrigeração, tem se tornado virtualmente possível a manutenção com preservação das características originais dos mais diversos espécimes, por extensos períodos de tempo. No entanto, ainda é questionável a estabilidade das amostras, após longos períodos, uma vez que a recomendação dos fabricantes dos reagentes bioquímicos, quanto à estabilidade de amostras, sejam elas refrigeradas e/ou congeladas, é





**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XX Seminário de Iniciação Científica

bem menor que o recomendado pela legislação vigente, principalmente quanto ao armazenamento de materiais biológicos no âmbito de pesquisa.

#### Referências bibliográficas

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 16 out. 1996.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 306, de 7 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 10 dez. 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 14 out. 2005a.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 347, de 13 de janeiro de 2005. Regulamenta o armazenamento e a utilização de material biológico humano no âmbito de projetos de pesquisa. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 10 mar. 2005b.

GAZE, R. et al. Reflexões éticas acerca dos estudos de soroprevalência de hepatites virais. Revista da Associação Médica Brasileira, 52(3): 162-9, 2006.

HENRY, J. B. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 20. ed. Barueri, SP: Manole, 2008. 1734 p.

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