

GABRIEL DE SOUZA LIMA OLIVEIRA

**Estudos de fontes de erros nos processos de
flebotomia com ênfase na estase venosa em
parâmetros bioquímicos.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas – Análises Clínicas.

Orientadores:
Prof^a. Dr^a. Marileia Scartezini
Prof. Dr. Nairo Massakazu Sumita

Curitiba
2007

Dedicado à

*Maria Tereza
Geraldo*

“Preferi a sabedoria aos cetros e tronos e, em comparação com ela, julguei sem valor a riqueza; a ela não igualei nenhuma pedra preciosa, pois, a seu lado, todo o ouro do mundo é um punhado de areia e, diante dela a prata será como lama.”

Sb 7, 8-9

SUMÁRIO

	pág.
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS	x
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 Introdução	1
2 Objetivos	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
3 Revisão da Literatura	4
3.1 A fase pré-analítica	4
3.2 Fatores associados à coleta da amostra que afetam os ensaios laboratoriais	7
3.2.1 Efeito do uso do torniquete sobre ensaios laboratoriais	8
3.2.2 O sistema de iluminação transdérmica	14
3.2.3 Efeito dos tubos de coleta a vácuo na variação pré-analítica	15
3.2.4 Gestão da qualidade	17
4 Materiais e Métodos	19
4.1 Aprovação do comitê de ética em pesquisa	19
4.2 Estudos da fase pré-analítica: seleção dos laboratórios	19
4.2.1 Critérios de inclusão	21
4.2.2 Critérios de exclusão	21
4.3 Identificação e quantificação das fontes de erro associadas à coleta de sangue com ênfase na flebotomia	21
4.4 Avaliação de desempenho do sistema de iluminação transdérmica (Venoscópio IV®) na coleta de sangue	25
4.5 Avaliação do efeito da estase venosa em ensaios laboratoriais de rotina	25
4.5.1 Seleção dos pacientes voluntários e formação dos grupos	26
4.5.2 Padronização do procedimento de coleta das amostras de sangue venoso	26
4.5.3 Processamento e armazenamento das amostras	27
4.5.4 Otimização do procedimento analítico	27
4.5.5 Determinação analítica dos ensaios laboratoriais de rotina em bioquímica clínica avaliados	28
4.6 Análises estatísticas	28
5 Resultados	30
5.1 Seleção dos laboratórios	30
5.2 Desempenho dos flebotomistas	31
5.3 Fontes de erro associado à coleta de sangue nos laboratórios em estudo	34
5.4 Avaliação de desempenho do sistema de iluminação transdérmica na coleta de sangue	35
5.4.1 Incidência de nova coleta do espécime diagnóstico coletado com o sistema de iluminação transdérmica	36
5.5 Estudo do efeito da estase venosa em ensaios laboratoriais	36

6	Discussão	49
6.1	Seleção dos laboratórios	49
6.2	Desempenho dos flebotomistas	50
6.3	Fontes de erros associados à coleta de sangue nos laboratórios em estudo	52
6.4	Avaliação de desempenho do sistema de iluminação transdérmica na coleta de sangue	52
6.5	Estudo do efeito da estase venosa em ensaios laboratoriais	53
6.5.1	Glicose	54
6.5.2	Proteínas totais e albumina	54
6.5.3	Cálcio total	55
6.5.4	Colesterol total e triglicérides	56
6.5.5	Fósforo sérico	57
6.5.6	Fosfatase alcalina	57
6.5.7	Potássio sérico	58
6.5.8	Sódio e magnésio	59
7	Conclusões	60
	Referências Bibliográficas	61

LISTA DE FIGURAS

	pág.	
Figura 1	Principais fontes de variação nos ensaios laboratoriais	04
Figura 2	Variação na concentração dos analitos após a mudança postural de deitado para de pé	08
Figura 3	Exemplos de torniquetes	09
Figura 4	Representação esquemática do efeito da estase venosa induzida pela aplicação do torniquete em constituintes do sangue	11
Figura 5	Variação na concentração de analitos após estase venosa prolongada por 6 minutos	12
Figura 6	Efeito do torniquete e contração do músculo do antebraço (clench) na potassemia	13
Figura 7	Princípio esquemático da iluminação transdérmica na identificação de vasos sanguíneos	15
Figura 8	Seqüência recomendada para tubos de coleta de sangue em sistemas a vácuo	16
Figura 9	Homogeneização de tubos a vácuo por inversão	17
Figura 10	Comparação do desempenho dos flebotomistas quanto ao tempo de aplicação do torniquete em laboratórios públicos e privados	33
Figura 11	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na concentração sérica de glicose	37
Figura 12	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na concentração sérica de proteínas totais	38
Figura 13	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na concentração sérica de albumina	39
Figura 14	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na concentração sérica de cálcio total	40
Figura 15	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na concentração sérica de colesterol total	41
Figura 16	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na concentração sérica de triglicérides	42
Figura 17	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na concentração sérica de fósforo	43
Figura 18	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na atividade sérica de fosfatase alcalina	44
Figura 19	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na concentração sérica de potássio	45

Figura 20	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na concentração sérica de sódio	46
Figura 21	Porcentagem da diferença entre torniquete (T) e Venoscópio (V) com o tempo de estase venosa na concentração sérica de magnésio	47

LISTA DE TABELAS

		pág.
Tabela 1	Freqüência de erros na fase pré-analítica em laboratórios de emergência	06
Tabela 2	Alterações na composição do soro quando a oclusão venosa é prolongada de 1 minuto para 3 minutos	12
Tabela 3	Lista de verificação empregada na seleção dos laboratórios	20
Tabela 4	Lista de verificação utilizada para avaliar o desempenho dos flebotomistas	22
Tabela 5	Ordem seqüencial e homogeneização correta para os tubos de coleta em sistema a vácuo	24
Tabela 6	Analitos e metodologias empregadas no estudo	28
Tabela 7	Freqüência dos critérios de exclusão no processo de seleção dos laboratórios	30
Tabela 8	Desempenho de 15 flebotomistas de laboratórios com administração pública quanto ao tempo de aplicação do torniquete	31
Tabela 9	Desempenho de 15 flebotomista de laboratórios com administração privada quanto ao tempo de aplicação do torniquete	32
Tabela 10	Freqüência dos erros observados durante a avaliação de desempenho dos 30 flebotomistas durante a coleta de sangue venoso periférico	34
Tabela 11	Dificuldades enfrentadas pelo flebotomista na utilização do sistema de iluminação transdérmica (Venoscópio IV) antes e após período de treinamento (1 semana) com o equipamento	35
Tabela 12	Freqüência de não conformidades que geravam nova coleta com a utilização do sistema de iluminação transdérmica (Venoscópio IV)	36
Tabela 13	Efeito do tempo de estase venosa na concentração da glicose sérica	37
Tabela 14	Efeito do tempo da estase venosa na determinação de proteínas totais sérica	38
Tabela 15	Efeito do tempo da estase venosa na determinação de albumina sérica	39
Tabela 16	Efeito do tempo da estase venosa na determinação de cálcio total sérico	40
Tabela 17	Efeito do tempo da estase venosa na determinação de colesterol total sérico	41
Tabela 18	Efeito do tempo da estase venosa na determinação triglicérides sérico	42
Tabela 19	Efeito do tempo da estase venosa na determinação de fósforo sérico	43
Tabela 20	Efeito do tempo da estase venosa na determinação de fosfatase alcalina sérica	44
Tabela 21	Efeito do tempo da estase venosa na determinação do potássio sérico	45
Tabela 22	Efeito do tempo da estase venosa na determinação do sódio sérico	46

Tabela 23	Efeito do tempo da estase venosa na determinação de magnésio sérico	47
Tabela 24	Sumário do efeito do tempo de aplicação do torniquete nos parâmetros bioquímicos estudados	48

LISTA DE ABREVIATURAS

ALKP	Fosfatase alcalina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AST	Aspartato aminotransferase
AV	Amplitude de variação
BD	Becton Dickinson
BNP	Peptídeo natriurético do tipo B
°C	Grau Celsius
CAP	College of American Pathologists
CEP-IDPC/FAJ	Comitê de Ética e Pesquisa - Instituto Dante Pazzanese de cardiologia / Fundação Adib Jatene
CK	Creatino quinase
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
cm	Centímetros
CVa	Coefficientes de variação analítica
CVS	Centro de Vigilância Sanitária
dL	Decilitro
DP	Desvio padrão
EDTA	Ácido diamino tetracético
g	Grama
G	Grupo
L	Litro
LD	Lactato desidrogenase
Ltda	Limitada

mg	Miligrama
mmHg	Milímetros de mercúrio
mmol	milimoles
n, N	Número total, tamanho amostral
NaF	Fluoreto de sódio
NBR	Norma brasileira
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Science</i>
p	Probabilidade
p	página
PALC	Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos
PNCQ	Programa Nacional de Controle de Qualidade
POP	Procedimento operacional Padrão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
s	Segundos
SBAC	Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
SBPC	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica
T4	Tiroxina
U/L	Unidades por litro

RESUMO

A fase pré-analítica compreende todos os procedimentos associados com o preparo do paciente, coleta e transporte da amostra. Neste estudo, foram estudadas fontes de erros pré-analíticos associados à flebotomia e o efeito do tempo de aplicação do torniquete nas concentrações de vários ensaios presentes na rotina laboratorial. Este projeto tem a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa. Foram selecionados para o estudo 10 laboratórios da cidade de São Paulo, Brasil, sendo 5 de administração pública e os demais de gerenciamento privado. Todos os laboratórios selecionados apresentaram sistemas analíticos automatizados, programas de treinamento dos profissionais, manual da qualidade e bom desempenho em programas de controle externo da qualidade. O desempenho de 30 flebotomistas, escolhidos aleatoriamente, sendo 3 de cada laboratório, foi estudado quanto ao tempo de aplicação do torniquete durante a coleta de sangue de 5 pacientes diferentes. Somente 2 flebotomistas (6,6%) entre os avaliados atingiram o tempo médio de aplicação do torniquete dentro do tempo máximo recomendado (<60segundos) em todas as coletas. Os flebotomistas oriundos de laboratórios de administração pública apresentaram um tempo médio no tempo de aplicação do torniquete significativamente maior quando comparado àqueles do setor privado ($98,9\pm 10,6s$ vs. $69,9\pm 10,6s$; $p<0,001$). Este resultado sugere que os laboratórios privados participantes deste estudo foram mais efetivos no treinamento de seus profissionais neste tópico, quando comparados aos laboratórios públicos. Todos os laboratórios estudados apresentaram elevada frequência (67 a 100%) de procedimentos incorretos relacionados a (1) recomendação para constrição do músculo do antebraço, (2) fricção do antebraço durante a anti-sepsia, (3) seqüência de tubos de coleta à vácuo, e (4) homogeneização dos tubos de sangue. O efeito de diferentes tempos de aplicação do torniquete (30, 60, 90, 120 e 180 segundos) sobre vários analitos presentes na rotina laboratorial, foram comparados com a coleta de sangue utilizando um sistema de iluminação transdérmica (Venoscópio IV, Duan do Brasil), que permite a venipunção sem o uso do torniquete. Cinquenta voluntários para cada tempo de aplicação do torniquete foram submetidos à coleta com o torniquete (braço direito) e com o sistema de iluminação transdérmica (braço esquerdo) simultaneamente. Os analitos estudados, proteínas totais, albumina, cálcio total, colesterol total, triglicerídeos, fosfatase alcalina, fósforo, glicose, magnésio, sódio e potássio foram quantificados com o sistema analítico de química seca Vitros 5.1 FS (*Ortho-Clinical Diagnostics, Johnson & Johnson*). O efeito do tempo de aplicação do torniquete comparado à coleta com o sistema de iluminação transdérmica mostrou (1) até 30 segundos de torniquete nenhuma determinação foi afetada, (2) analitos de massa molecular elevada, como proteínas, e moléculas associadas com estas, como o cálcio, apresentaram diferenças clínicas significativas (> 5%) após 90 segundos de aplicação do torniquete, (3) analitos de peso molecular pequeno e difusíveis como glicose, sódio, magnésio e fósforo foram pouco afetados (< 3%) pelo tempo de aplicação do torniquete mesmo após 180 segundos, e (4) o potássio apresentou um padrão bifásico de resposta, com rápida e significativa elevação (>5%) após somente 60 segundos de aplicação do torniquete seguido de um perfil estável de elevação de cerca de 2-3% entre 90 e 180 segundos. Em síntese, nossos estudos mostraram que o laboratório precisa introduzir procedimentos novos e específicos para monitorar os erros na fase pré-analítica com ênfase na flebotomia. As listas de verificação e procedimentos desenvolvidos neste estudo podem ser utilizadas como ferramentas efetivas para detectar erros e melhorar a qualidade na fase pré-analítica.

Palavras-Chaves: variabilidade pré-analítica, flebotomia, coleta de amostra de sangue, controle de qualidade, torniquete, transiluminador, Venoscópio.

ABSTRACT

The preanalytical phase comprehends all procedures associated with the patient preparation, sample collection and transport for the laboratory. In this phase about 70% of clinical laboratory errors occur. We studied sources of preanalytical errors associated with phlebotomy and the effect of tourniquet time in serum levels of several routine assays. This study was approved by the Committee for Ethics in Research. We selected 10 clinical laboratories from Sao Paulo city, Brazil, being 5 of them managed by public healthcare others from private administration. All the selected laboratories had automated equipments, training professionals, quality control manual and high scores in external quality control programs. The performance of 30 phlebotomists, randomly chosen, 3 for each selected laboratory, was observed for the tourniquet time application during the blood collection. The blood collection procedures for five different patients were analyzed for each phlebotomist. Only two (6.6%) studied phlebotomists achieved the mean tourniquet time recommended (<60seconds) in all procedures. The phlebotomists from laboratory of public administration showed a significant higher mean time of tourniquet application when compared to the private ones ($98.9 \pm 17.3s$ vs. $69.9 \pm 10.6s$; $p < 0.001$). This finding suggested that the studied private laboratories were more effective in training their professionals than private ones in this particular topic. All studied laboratories showed a high frequency (67 to 100%) of incorrect procedures related to (1) recommended forearm clench, (2) friction the forearm during skin disinfection, (3) sequences of vacuum blood tubes, and (4) blood collection tubes homogenization. The effects of different tourniquet time application (30, 60, 90, 120, and 180seconds) in several routine analytes were compared to a blood collection with the assistance of a transilluminator device (Venoscopio IV, Duan do Brasil) that allowed the venipuncture without the use of the tourniquet. Fifty volunteers for each tourniquet time were submitted to a blood collection with tourniquet (right arm) and simultaneously with the transilluminator device (left arm). The studied analytes, total protein, albumin, total calcium, total cholesterol, triglycerides, alkaline phosphatase, glucose, phosphorous, magnesium, potassium and sodium were measured with Vitros 5.1 FS dry chemistry automated analyzer (Ortho-Clinical Diagnostics, Johnson & Johnson). Comparison of the effects on the studied analytes between tourniquet time and transilluminator device showed: (1) up to 30 seconds of tourniquet do not affect any assay, (2) high molecular weight analytes, such as proteins, and others associated with them, such as calcium, showed clinical significant differences (>5%) after 90 seconds of tourniquet time, (3) low molecular weight and high diffusible analytes such as glucose, sodium, magnesium and phosphorous were little affected (< 3.0%) for tourniquet even after 180 seconds of tourniquet time, and (4) potassium showed a biphasic pattern increasing rapidly for more than 5% after only 60 seconds of tourniquet followed by a stable increase of about 2 – 3% after 90 to 180 seconds. In summary, our study showed that laboratory must introduce new and specific procedures to monitoring the preanalytical phase errors with focus in the phlebotomy. The questionnaires and procedures developed in this study could be used as an effective tool to detect errors and improve quality for the preanalytical phase.

Key-words: preanalytic variability, phlebotomy, blood specimen collection, quality control, tourniquet, transilluminator, venoscopio.

1 INTRODUÇÃO

A participação de um laboratório no diagnóstico é um processo dinâmico que se inicia com coleta do espécime diagnóstico e termina com a emissão de um laudo. O laboratório tem interfaces importantes com o paciente e com o clínico. Estas interações demandam constantes atualizações de todos os profissionais envolvidos nas atividades laboratoriais. Entre estas atividades, a identificação de fontes de erros e soluções inovadoras para evitá-los se destaca na busca da excelência dos resultados e na garantia da qualidade.

O processamento de uma amostra biológica em um laboratório pode ser didaticamente caracterizado em três fases: pré-analítica, analítica e pós-analítica.

A fase pré-analítica consiste na preparação do paciente, coleta, manipulação e armazenamento da amostra antes da determinação analítica, ou seja, engloba todas as atividades que precedem a análise.

A fase analítica é caracterizada pela realização do ensaio propriamente dito e tem entre elementos a validação do sistema metodológico a ser empregado, utilizando como ferramenta a avaliação crítica do controle da qualidade interno e externo em todas as ações que envolvem a obtenção do resultado.

A fase pós-analítica inicia-se com a geração do resultado e envolve todos os procedimentos para que este seja eficaz, incluindo a participação do laboratório na interpretação dos ensaios e caracterização do diagnóstico.

Vários estudos demonstram que a fase pré-analítica concentra cerca de 70% dos erros e fontes de variação associados aos processos laboratoriais. Esta constatação de PLEBANI e CARRARO (1997) recomenda que a gestão da qualidade para ser bem sucedida deve priorizar a fase pré-analítica. No entanto, a realidade mostra outro quadro. A fase pré-analítica é freqüentemente subestimada e poucos elementos da gestão da qualidade são direcionados especificamente para esta etapa essencial na obtenção de resultados confiáveis.

A integração da fase pré-analítica nos programas de qualidade é certamente uma tarefa complexa devido às múltiplas variáveis envolvidas, em especial aquelas que envolvem a atividade humana.

Neste trabalho, estudei várias fontes de erro na fase pré-analítica nos laboratórios avaliados, procurando quantificar o efeito da estase venosa e outros processos associados à flebotomia, bem como proponho novos elementos à gestão da qualidade no monitoramento dos processos estudados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar fontes de erro no processo de flebotomia com ênfase no efeito da estase venosa.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar e quantificar as fontes de erro associadas à coleta de sangue;
- Comparar as fontes de erro pré-analíticas entre os laboratórios sob administração pública e privada;
- Avaliar o desempenho do sistema de iluminação transdérmico (Venoscópio IV[®]), como substituto do torniquete para facilitar a identificação do sítio da punção venosa, e
- Quantificar o efeito da estase venosa em parâmetros bioquímicos pela coleta de amostras em condições padronizadas em diferentes tempos de aplicação do torniquete.

3. REVISÃO DA LITERATURA

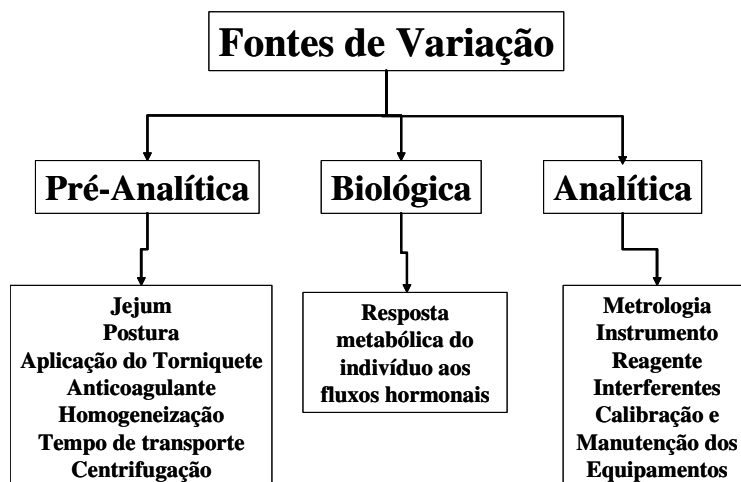
Os componentes biológicos presentes nos fluídos orgânicos apresentam flutuações constantes nos seus níveis de concentração decorrentes dos processos fisiológicos normais. Estas variações afetam a interpretação dos analitos de uso diagnóstico (WALMSLY e WHITE, 1994; GIRELLI et al., 2004).

A variação dos componentes biológicos é influenciada por diversos fatores, sendo que entre eles podemos citar: o jejum, a postura e a resposta metabólica do indivíduo aos fluxos hormonais, entre outros (WALLIN et al., 2008).

3.1 A fase pré-analítica

BROOKS (1998) classificou os principais fatores que influenciam na magnitude da variação dos parâmetros biológicos em três grupos: as variáveis pré-analíticas, analíticas e biológicas, as quais podem ser observadas na Figura 1.

FIGURA 1 – PRINCIPAIS FONTES DE VARIAÇÃO NOS ENSAIOS LABORATORIAIS



Adaptado de BROOKS (1998) e FRASER (2001).

A fase pré-analítica é responsável por aproximadamente 70% do total de erros cometidos pelos laboratórios que dispõem de sistema de qualidade bem estabelecido, (PLEBANI e CARRARO, 1997; ERNST, 2005; SBPC/ML, 2005). LIPPI et al. (2006), sugerem que 93% dos erros laboratoriais encontrados resultam da falta de padronização na fase pré-analítica como a inobservância da adequada preparação do paciente, coleta, manipulação e armazenamento da amostra. Padronizar a fase pré-analítica reduz significativamente a variação nos resultados para a maioria dos analitos (FRASER, 1988).

PLEBANI e CARRARO (1997) analisaram as principais não-conformidades em um laboratório de emergência de grande porte com sistema da qualidade bem estabelecido e observaram que os erros relacionados à fase pré-analítica foram responsáveis por cerca de 70% do total dos problemas. Novo estudo, realizado cerca de 10 anos depois, mostrou que as não-conformidades anteriormente observadas persistiram embora com frequências diferentes do estudo anterior, (CARRARO e PLEBANI, 2007). Os resultados destes estudos estão sumarizados na Tabela 1.

TABELA 1. FREQUÊNCIA DE ERROS NA FASE PRÉ-ANALÍTICA EM LABORATÓRIOS DE EMERGÊNCIA

Não conformidades avaliadas Pré-analíticas	Frequências (%)	
	1997	2007
Coleta da amostra inadequada	2,1	0,6
Perda da solicitação do médico	18,1	1,9
Interpretação incorreta da solicitação médica	3,2	3,8
Erro na identificação do paciente	2,6	8,8
Coleta em recipiente inadequado	2,6	8,1
Amostra com coleta em rota de infusão endovenosa	20,6	1,9
Erro na especificação da unidade hospitalar	19,0	---
Tubo vazio	---	6,9
Ausência de entrada da solicitação médica no sistema de informação laboratorial	---	2,5
Incorreta proporção entre sangue e aditivos	---	13,1
Amostras sem refrigeração	---	1,9
Perda do tubo	---	3,1
Frequência no monitoramento da digoxina inadequada	---	0,6
Solicitação de procedimento errado	---	7,5
Pedido mal interpretado	---	1,3
Total	68,2	62

Adaptado de PLEBANI e CARRARO (1997) e CARRARO e PLEBANI (2007).

É possível concluir destes trabalhos que a fase pré-analítica é a principal fonte de erros nos ensaios laboratoriais e as não conformidades estudadas podem ser melhor controladas com programas adequados de treinamento. No entanto, as fontes de erros relacionadas diretamente à atuação de profissionais são difíceis de ser eliminadas.

Recentemente a automação da fase pré-analítica vem incorporando sistemas robóticos agrupados em módulos específicos para realização da centrifugação, aliquotagem, elaboração de soroteca e resgate de amostras (BOYD, 2002).

DEMERS et al. (2002) encontraram no sistema de automação “GENESIS FE500®” uma forma para reduzir a fadiga dos operadores associada ao processamento das amostras. Os autores sugerem que este sistema automatizado reduz a ocorrência de erros laboratoriais relacionados à separação, identificação e preparo de alíquotas das amostras.

A expectativa da minimização dos erros pré-analíticos associados a este tipo de automação deverá ser uma realidade apenas para poucos laboratórios devido ao elevado custo dos sistemas ora disponíveis (ALLER e FELDER, 2007; ALLER e FERDER, 2008).

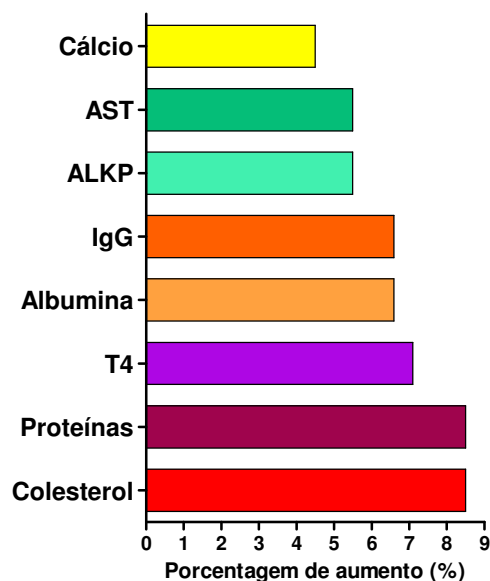
A influência das variáveis pré-analíticas pode ser minimizada, ao se estabelecer uma orientação adequada aos pacientes em relação à necessidade de jejum prévio a coleta da amostra, a supressão de exercícios físicos extenuantes no período que antecede a coleta, e outras informações relativas ao hábito de fumar e ao período do ciclo menstrual (YOUNG, 1997). Também é relevante obter informações sobre a utilização de medicamentos e drogas terapêuticas (YOUNG, 2000).

3.2 Fatores associados à coleta da amostra que afetam os ensaios laboratoriais

O treinamento adequado dos profissionais da área da saúde que realizam a coleta de materiais biológicos de forma invasiva (sangue arterial, venoso e/ou capilar) no que se refere a fatores que afetam os resultados laboratoriais como a postura do paciente na hora da coleta, o tempo de aplicação do torniquete, o efeito da constrição do músculo do antebraço antes da venipunção, a ordem correta dos tubos nas coletas em sistema a vácuo e a adequada homogeneização destes, é crítica para a obtenção de amostras de boa qualidade para a fase analítica (GUDER et al., 1996; FRASER, 2001).

A mudança do corpo em decubito, freqüentemente encontrada em pacientes acamados no âmbito hospitalar, para a posição vertical promove uma alteração na distribuição da água corporal. Esta água se move do compartimento intravascular para o intersticial o que reduz o volume do plasma em cerca de 12%. Elementos celulares, proteínas e outras macromoléculas, bem como vários elementos associados a estas que não se difundem facilmente devido ao seu tamanho, sofrem uma aparente concentração na diferença postural em tela (WALMSLEY e WHITE, 1994). A Figura 2 ilustra as variações observadas para diversos analitos pela mudança postural do paciente de deitado para de pé, durante a coleta.

FIGURA 2 - VARIAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DOS ANALITOS APÓS A MUDANÇA POSTURAL DE DEITADO PARA DE PÉ



As macromoléculas têm suas concentrações aumentadas entre 5 e 15% nas concentrações séricas pela mudança postural da posição horizontal (deitado) para a vertical (em pé). Adaptado de GUDER et al 1996.

3.2.1 Efeito do uso do torniquete sobre ensaios laboratoriais

O torniquete pode ser definido como um instrumento de compressão, usado para obstruir temporariamente a circulação sanguínea de um membro, geralmente o superior, por um determinado tempo através da aplicação de uma pressão local. Esta pressão ao ser aplicada sobre a pele é transferida à parede dos vasos causando uma oclusão transitória (LIPPI et al., 2006b). No caso do laboratório clínico, a oclusão venosa pelo torniquete induz um aumento da pressão de filtração através das paredes dos capilares. Líquidos e compostos de baixo peso molecular passam pelas paredes dos capilares abaixo do local do torniquete, produzindo hemoconcentração. O aumento na turgidez dos vasos sanguíneos pelo acúmulo de sangue facilita sua identificação e punção subsequente.

O torniquete, também designado de garrote, pode ser classificado em pneumático e não pneumático (Figura 3). Os torniquetes ditos pneumáticos são constituídos de um manguito conectado a um ducto, o qual permite inflá-lo com gás ou ar comprimido já os não pneumáticos, são também conhecidos como não infláveis (PECLER e HSU, 2001).

FIGURA 3 – EXEMPLOS DE TORNIQUETES



O torniquete pneumático requer ser inflado por uma bomba de pressão que pode ser manual ou elétrica e permite aplicar uma pressão padronizada no local. O torniquete não pneumático, o mais utilizado, é caracterizado por ser um material elástico, podendo ser descartável e que adequadamente utilizado produz uma oclusão vascular.

No Brasil o torniquete mais utilizado na coleta do espécime diagnóstico é tipo não pneumático, constituído de látex. Porém uma normativa internacional, a NCCLS H3-A5, (2003), preconiza a utilização dos torniquetes pneumáticos pela facilidade de padronização na pressão a ser aplicada e preferencialmente livre de látex na sua composição.

Segundo LIPPI et al. (2006b) e a normativa NCCLS H3-A5 (2003) do CLSI, o torniquete deve ser aplicado com uma distância de aproximadamente 7,5 cm acima do sítio de punção e deveria ser apertado o suficiente para obstruir o fluxo venoso sem afetar o fluxo arterial (aproximadamente 20-30 mmHg inferior a pressão sistólica).

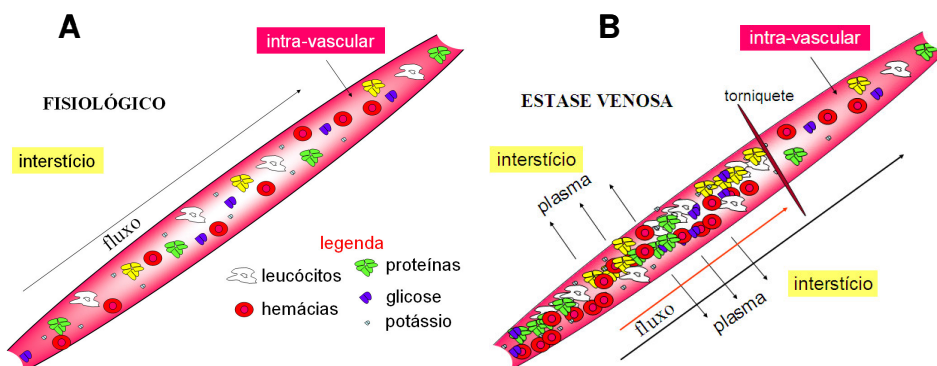
Em condições fisiológicas as concentrações dos elementos que compõe o sangue são homogêneas em toda a extensão do vaso. A obstrução do fluxo sanguíneo,

gerada pela aplicação do torniquete, produz hemoconcentração pela estase venosa na região do vaso afetada pela aplicação do torniquete. A estase venosa, também, gera um aumento na pressão intravascular e a água e os compostos de baixo peso molecular se movem do espaço intravascular para o intersticial. Constituintes do sangue de massa molecular alta como proteínas e substâncias ligadas às proteínas aumentam suas concentrações devido à impossibilidade de difusão para o interstício (GUDER et al 1996; LIPPI et al 2006b). A Figura 4 mostra uma representação esquemática dos principais eventos associados à hemoconcentração associada ao uso do torniquete.

O uso prolongado do torniquete durante a coleta de exames laboratoriais para quantificação das enzimas de origem muscular pode induzir ao diagnóstico equivocado de polimiosite juvenil cuja terapia é a administração de corticóides em altas doses (MÜHLEN et al. 2004).

Para que a aplicação do torniquete não interfira nas determinações quantitativas de analitos, este deve ser retirado no momento em que a agulha é introduzida no acesso venoso (ERNST e ERNST, 2002)

FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO EFEITO DA ESTASE VENOSA INDUZIDA PELA APLICAÇÃO DO TORNIQUETE EM CONSTITUINTES DO SANGUE



Elementos celulares como leucócitos e eritrócitos, macromoléculas como lipoproteínas, proteínas, compostos associados às proteínas, moléculas de baixo peso molecular como glicose e eletrólitos, têm difusão do ambiente intracelular para o interstício em homeostasia (Figura 4-A). A aplicação do torniquete obstrui o fluxo sanguíneo criando um ambiente de estase venosa (Figura 4-B) que promove hemoconcentração devido ao efluxo de água do vaso para o interstício. Elementos de baixa massa molecular difundem-se com a água e reduzem suas concentrações no vaso e compostos de alta massa molecular por não se difundirem apresentam-se com maior concentração relativa.

Vários órgãos que promovem padronizações para o laboratório, como o CLSI tem em sua normativa (NCCLS H3-A5, 2003), que o tempo de aplicação do torniquete não deve ultrapassar o limite de 1 minuto, porque a hemoconcentração após este tempo produz alterações significativas nos ensaios laboratoriais.

A Tabela 2 e a Figura 5 exemplificam o efeito do tempo prolongado do uso do torniquete em ensaios laboratoriais.

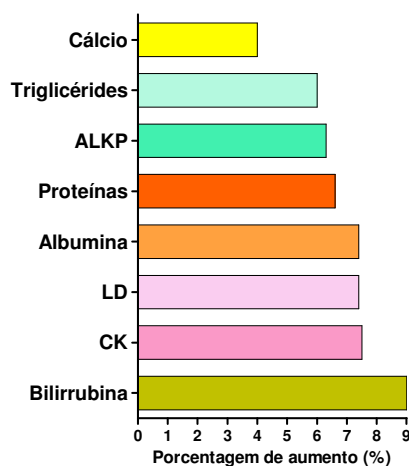
TABELA 2 - ALTERAÇÕES NA COMPOSIÇÃO DO SORO QUANDO A OCLUSÃO VENOSA É PROLONGADA DE 1 MINUTO PARA 3 MINUTOS

Efeito	Analitos	% de variação
Aumento	Proteínas Totais	4,9
	Colesterol total	5,1
	Ferro	6,7
	Bilirrubina	8,4
	Aspartato aminotransferase	9,3
Redução	Potássio	6,2

Adaptado de STATLAND et al, 1979.

Este estudo realizado com número pequeno de participantes (11 indivíduos) caracteriza o efeito do tempo de aplicação do torniquete num intervalo de tempo cerca de 3 vezes superior ao recomendado, e evidencia o significativo efeito nos resultados laboratoriais deste fator pré-analítico (STATLAND, 1979).

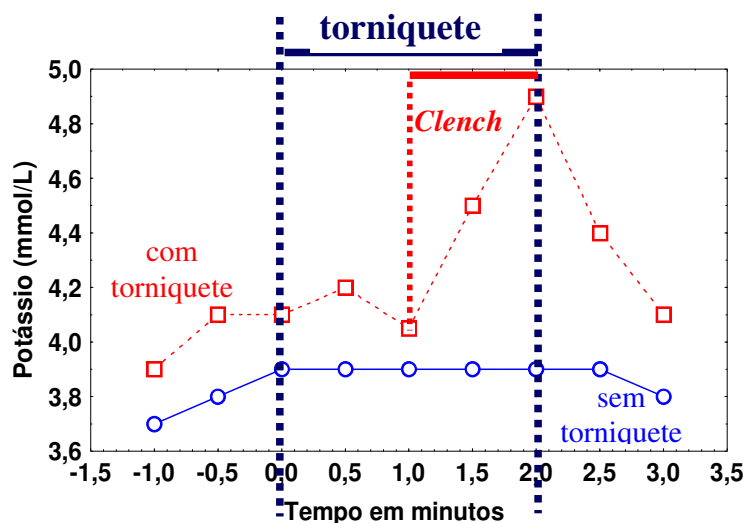
FIGURA 5 - VARIAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE ANALITOS APÓS ESTASE VENOSA PROLONGADA POR 6 MINUTOS



Analitos com elevada massa molecular como proteínas e enzimas, moléculas associadas às proteínas como colesterol, triglicérides, bilirrubinas e cálcio, apresentam alterações clinicamente significativas (>5%) nas concentrações séricas quando o torniquete é utilizado por um período prolongado de 6 minutos. Adaptado de MILLER et al. (1992) e YOUNG (1993).

Um dos ensaios laboratoriais que pode ser expressivamente afetado por fatores pré-analíticos é o potássio sérico. O tempo de aplicação do torniquete pode segundo alguns estudos, reduzir a concentração de potássio (Tabela 2) ou aumentar sua concentração sérica (NARAYANAN, 1996). Entre os elementos da fase pré-analítica que afetam este ensaio estão: hemólise, liberação do potássio de plaquetas, demora na separação do soro dos eritrócitos e exercícios no braço onde se realiza a punção após a aplicação do torniquete. Este último fator é uma não-conformidade comum na sala de coleta, quando o paciente é incorretamente orientado a “abrir e fechar a mão”, para facilitar a localização do vaso a ser puncionado (TIETZ, 1995). A Figura 6 mostra o efeito do torniquete sobre a determinação do potassemia, na presença da contração do músculo de antebraço, procedimento de abrir e fechar a mão, (*clench do músculo*).

FIGURA 6 – EFEITO DO TORNIQUETE E CONTRAÇÃO DO MÚSCULO DO ANTEBRAÇO (*clench*) NA POTASSEMIA



A aplicação do torniquete durante a coleta (quadrados abertos) aumenta a concentração de potássio sérico quando comparado com a coleta sem torniquete (círculos abertos). A contração do músculo do antebraço (*clench*), associada ao torniquete, potencializa a elevação do potássio sérico, evidenciando o efeito destes elementos da fase pré-analítica no resultado da potassemia. Adaptado de KAPLAN e PESCE (1996).

SMITH et al. (2004) alertam sobre os possíveis erros causados pela coleta, processamento, manuseio e transporte de amostras para a determinação de potássio. Este cátion exerce função crítica na hemostasia, e resultados incorretos podem afetar significativamente a conduta clínica sobre o paciente.

É primordial instituir um programa de treinamento adequado aos profissionais da área da saúde, mesmo, quando estes não pertencem à equipe de flebotomistas do laboratório, mas que também realizam a coleta de sangue arterial, venoso e/ou capilar para fins diagnóstico (BONINI et al., 2002). É necessário também que o treinamento seja perene para os profissionais envolvidos na coleta de amostras para evitar erros e fontes de variação na fase pré-analítica (YOUNG, 2003).

3.2.2 O sistema de iluminação transdérmica

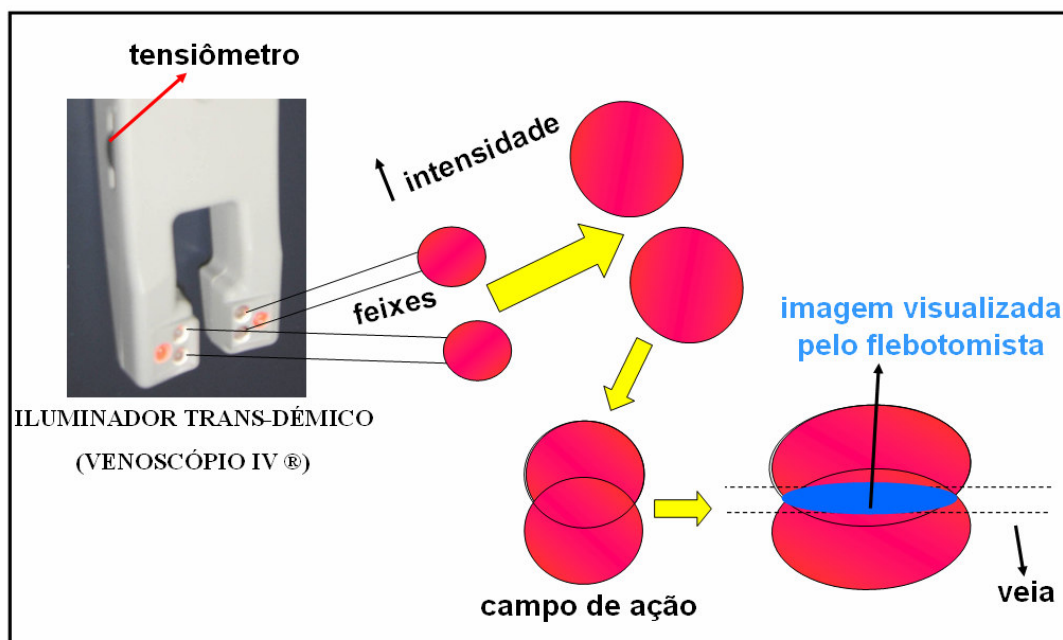
Uma ferramenta para facilitar a coleta e eliminar os efeitos da aplicação do torniquete é o sistema de iluminação transdérmica.

Neste equipamento, dois fachos luminosos de intensidade controlada, atravessam a pele atingindo a camada mais profunda do tecido subcutâneo. Um vaso sanguíneo que se encontra entre os fachos luminosos aparecerá como uma sombra escura, delimitada pela intersecção do fecho luminoso convergente. A imagem do vaso, observada com a iluminação transdérmica permite identificar sua localização, avaliar seu calibre e observar a presença de bifurcações. Este sistema também permite identificar o extravasamento de líquido do vaso no sítio de terapia endovenosa (KATSOGRIDAKIS et al, 2008).

A iluminação transdérmica foi proposta inicialmente para facilitar a venipunção em crianças por KUHNS et al (1975).

A Figura 7 mostra esquematicamente o princípio do sistema de iluminação transdérmica.

FIGURA 7 - PRINCÍPIO ESQUEMÁTICO DA ILUMINAÇÃO TRANSDÉRMICA NA IDENTIFICAÇÃO DE VASOS SANGÜÍNEOS



O iluminador transdérmico (Venoscópio IV, Duan do Brasil) emite dois feixes intensos de luz, vermelho e branco, sendo a intensidade de emissão controlada por um tensiômetro. A luz penetra no tecido subcutâneo e um vaso sanguíneo que se interponha entre os feixes de luz pode ser identificado pelo contraste com o tecido que o contorna.

3.2.3 Efeito dos tubos de coleta a vácuo na variação pré-analítica

Os tubos de coleta a vácuo, de uso extensivo no laboratório, são considerados um elemento importante na padronização e minimização de variação na fase pré-analítica (BOWN et al, 2005).

A seqüência de utilização dos diferentes tipos de tubos de coleta em sistema a vácuo é uma potencial fonte de erro, pois aditivos anticoagulantes e/ou pró-coagulantes no interior do tubo podem contaminar a porção distal da agulha (agulha interna do adaptador recoberta pela manga de borracha), podendo interferir nas análises dos tubos subseqüentes (NCCLS H3-A5, 2003). Visando minimizar e/ou

eliminar esta interferência foi publicada uma normativa estabelecendo uma seqüência recomendada para os tubos na coleta em sistema a vácuo, mostrado na Figura 8.

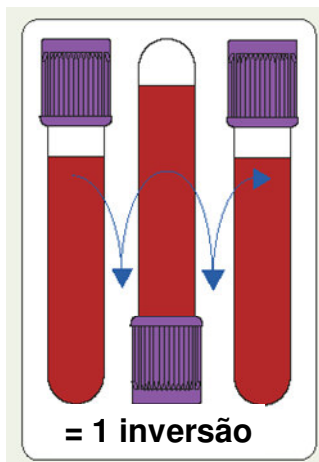
FIGURA 8 – SEQÜÊNCIA RECOMENDADA PARA TUBOS DE COLETA DE SANGUE EM SISTEMAS A VÁCUO



A seqüência de tubos deve ser respeitada para evitar a possível contaminação entre os diversos aditivos utilizados. A seqüência apresentada e a coloração das tampas dos tubos são padronizadas pelos fabricantes destes produtos. Adaptado das Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para Coleta de Sangue Venoso, 2005, p 63. Baseado no documento do NCCLS H3-A5, Vol. 23, nº 32, 8.1 (fotografia reproduzida com autorização do autor).

A forma de homogeneização dos tubos também afeta a qualidade da amostra (LIPPI et al, 2006c). A homogeneização deve ser por inversão (Figura 8) e suave para evitar hemólise. Também o número de inversões deve ser adequado para garantir a adequada mistura com os aditivos (Figura 9 e Tabela 6).

FIGURA 9 – HOMOGENEIZAÇÃO DE TUBOS A VÁCUO POR INVERSÃO



Padronização do processo de homogeneização por inversão de amostras de sangue coletadas em sistemas a vácuo. A figura representa a seqüência que caracteriza uma inversão. Adaptado das Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para Coleta de Sangue Venoso, 2005, p 30.

3.2.4 Gestão da qualidade

Os processos de auditoria no laboratório para detecção de erros e melhoria do desempenho, bem como, a monitoração dos eventos adversos são algumas das ferramentas que os laboratórios poderiam implementar para minimizar os riscos de erro e estabelecer procedimentos de prevenção (GRAY, 2000). Estes procedimentos devem ser usados também como ferramentas na detecção de erros causados por problemas organizacionais fora do laboratório (BONINI et al., 2002).

A fase analítica historicamente recebeu atenção especial dos profissionais do laboratório. Avanços significativos ocorreram especialmente nas últimas duas décadas, com a popularização do uso de sistemas automatizados, a evolução tecnológica dos reagentes, possibilitando uma expressiva redução nos coeficientes de variação analíticos e aumentando a confiabilidade nos resultados (YOUNG, 2005).

Por outro lado, a fase pré-analítica, mesmo com o advento recente e pouco difundido da automação, depende em grande parte da atuação de profissionais

treinados e motivados para interagir diretamente com o paciente e com os demais profissionais do laboratório. Julgo que o desafio em curso é conhecer melhor os erros que afetam a fase pré-analítica, propor novos procedimentos para sua monitoração e mecanismos perenes de correção. Este certamente é um o grande desafio do presente.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aprovação do comitê de ética em pesquisa

O projeto inicialmente intitulado “Avaliação do Venoscópio IV® na coleta de exames laboratoriais”, foi submetido à aprovação do comitê de ética em pesquisa do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia / Fundação Adib Jatene (CEP-IDPC/FAJ), em 22 de junho de 2005, e obteve a aprovação sob o protocolo de número 3359, em 8 de julho de 2005.

Posteriormente, com a adição da ementa nº 01, que altera o título do projeto para “O efeito da estase venosa em ensaios laboratoriais” e readequação dos objetivos, este foi submetido ao CEP-IDPC/FAJ (Comitê de Ética e Pesquisa - Instituto Dante Pazzanese de cardiologia / Fundação Adib Jatene), sendo aprovado em 4 de dezembro de 2006, com o protocolo de número 3359.

4.2 Estudos da fase pré-analítica: seleção dos laboratórios

Os laboratórios da cidade de São Paulo que participaram deste estudo foram pré-selecionados através da lista de verificação mostrada na Tabela 3. Apenas laboratórios de médio (cerca de 50.000 exames por mês) e grande porte (> 50.000 exames mês) foram avaliados.

Os elementos que compõe a lista de verificação (Tabela 3) e respectivos critérios associados à qualidade foram obtidos nas normativas abaixo relacionadas:

- Portaria nº 13 do Centro de Vigilância Sanitária (CVS) do estado de São Paulo, de 4 de novembro de 2005;
- Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº 302 de 13 de outubro de 2005;
- NBR ISO 9001:2000;

- Normas do Programa de Acreditação para Laboratórios Clínicos (PALC) versão 2004 da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica (SBPC), e
- Normas do programa de acreditação do *College of American Pathologists* (CAP).

TABELA 3 – LISTA DE VERIFICAÇÃO EMPREGADA NA SELEÇÃO DOS LABORATÓRIOS

Questões	Respostas	
1. O laboratório possui automação analítica?	1 Sim ()	2 Não ()
2. O operador técnico da automação analítica possui treinamento certificado pelo fabricante e/ou distribuidor do equipamento?	1 Sim ()	2 Não ()
3. O laboratório possui manual da qualidade?	1 Sim ()	2 Não ()
4. O laboratório realiza controle interno na amplitude normal e patológico diariamente?	1 Sim ()	2 Não ()
5. O laboratório realiza controle externo periodicamente?	1 Sim ()	2 Não ()
6. Com qual frequência o controle externo é realizado?	_____ meses	
7. O paciente fica sentado por mais de 5 minutos na sala de coleta antes da coleta de sangue venoso periférico?	1 Sim ()	2 Não ()
8. Quanto tempo depois da coleta o material é centrifugado?	_____ min.	depende do nº de amostras ()

4.2.1 Critérios de inclusão

Foi considerado critérios de inclusão dos laboratórios neste projeto de pesquisa, aqueles que responderam afirmativamente as questões de 1 a 6 presentes na Tabela 3. Os itens selecionados no critério de inclusão contemplam elementos essenciais do sistema da qualidade, aceitos universalmente.

4.2.2 Critérios de exclusão

Foi definido como critério de exclusão dos laboratórios, instituições que depois de selecionadas não permitissem o uso dos dados obtidos no projeto para futuras publicações.

No total, trinta e sete laboratórios foram avaliados e a seleção foi encerrada quando 10 laboratórios, sendo 5 de administração pública e 5 de administração privada, cumpriram os critérios de inclusão.

4.3 Identificação e quantificação das fontes de erro associadas à coleta de sangue com ênfase na flebotomia

Para identificar e quantificar as fontes de erro associadas à coleta de sangue com ênfase na flebotomia foi utilizado os critérios recomendados e publicados nas normativas do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), abaixo relacionadas:

- NCCLS H3-A5. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture*. 5ed., 2003;
- NCCLS H18-A3. *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens*. 3ed., 2004;
- NCCLS H21-A4. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays*. 4ed., 2003;

- NCCLS H1-A5. *Tubes and Additives for Venous Blood Specimen Collection*. 5ed., 2003.

O desempenho de 3 flebotomistas, selecionados aleatoriamente, foi avaliado em cada um dos 10 laboratórios previamente selecionados, perfazendo um total de 30 flebotomistas avaliados. A lista de verificação utilizada neste estudo esta na tabela 4.

TABELA 4 – LISTA DE VERIFICAÇÃO UTILIZADA PARA AVALIAR O DESEMPENHO DOS FLEBOTOMISTAS

Flebotomista	Avaliação	
1. Tempo aplicação do torniquete	Paciente I	___ segundos
	Paciente II	___ segundos
	Paciente III	___ segundos
	Paciente IV	___ segundos
	Paciente V	___ segundos
2. O flebotomista solicitou ao paciente a constrição do músculo do antebraço?	1 Sim ()	2 Não ()
3. O flebotomista friccionou o antebraço do paciente, para provocar a estase venosa?	1 Sim ()	2 Não ()
4. O flebotomista realizou a coleta com a seqüência correta dos tubos?	1 Sim ()	2 Não ()
5. Qual a seqüência de tubos utilizada pelo flebotomista?	() citrato de sódio () fluoreto de sódio () EDTA () aditivo pró coagulante e gel separador	() o flebotomista não tem uma seqüência pré estabelecida, os tubos são inseridos no sistema de coleta a vácuo aleatoriamente.
6. O flebotomista realizou a homogeneização dos tubos de forma correta?	1 Sim ()	2 Não ()

O usual para os laboratórios da cidade de São Paulo é apresentar no máximo, 5 flebotomistas por posto de coleta. Ao propor avaliar 3 flebotomistas dos 5 atuantes, estudei cerca de 60% dos profissionais no serviço avaliado.

Para este estudo, cada flebotomista foi monitorado na coleta de 5 pacientes. Objetivando a padronização e evitando “desvios” na análise, foram selecionados somente, pacientes com as características abaixo descritas:

- Adultos (mais de 18 anos e menos de 65 anos) de ambos os sexos;
- Excluídos: gestantes, obesos, e pacientes submetidos à quimioterapia, mastectomia, cateterismo ou provenientes de internação prolongada; fatores que podem propiciar maior dificuldade na localização do sítio de punção, e
- A requisição para exames contemplava a necessidade do uso de 3 tubos de coleta, para avaliar este item no estudo.

Nos laboratórios que participaram deste estudo, as cinco coletas estudadas, representam cerca de 10% das venipunções realizadas por cada flebotomista, elementos que caracterizam nosso universo amostral.

Para a contagem do tempo de aplicação do torniquete foi utilizado um mesmo cronômetro (calibrado e aferido por um instituto metrológico vinculado a Rede Brasileira de Calibração) em todas as medidas, sendo considerado o tempo em segundos, aquele decorrido entre a aplicação e remoção do torniquete (Tabela 4 item 1).

Durante a avaliação de conduta do flebotomista na orientação do cliente quanto à constrição inadequada do músculo do antebraço (Tabela 4 item 2), foi monitorada a solicitação de movimentos caracterizados pelo “abre-e-fecha da mão” utilizados para facilitar a localização do vaso a ser puncionado. Também foram considerados como “solicitantes”, os flebotomistas que não orientaram os pacientes que este procedimento é inadequado, visto que alguns pacientes que adentravam a sala de coleta já vinham realizando este movimento por vontade própria devido a orientações incorretas anteriores.

Foi monitorado se o flebotomista friccionava o músculo do antebraço no momento da anti-sepsia (Tabela 4, item 3), procedimento que facilita a localização do vaso, mas não é recomendado por alterar as análises.

A coleta em sistema a vácuo, que requer diferentes tipos de tubos, deve ser realizada com os tubos de coleta em ordem pré-determinada para evitar possíveis contaminações dos diferentes aditivos nas análises. A Tabela 5 mostra a ordem correta de utilização dos tubos com diferentes aditivos e as recomendações para o uso (procedimento de homogeneização) conforme os fabricantes de tubos para coleta de sangue em sistema a vácuo, que foram analisados neste estudo.

TABELA 5 – ORDEM SEQUENCIAL E HOMOGENEIZAÇÃO CORRETAS PARA OS TUBOS DE COLETA COM SISTEMA A VÁCUO

Ordem sequencial	Descrição do aditivo	Fabricantes/ homogeneização		
		Becton Dickinson®	Greiner Bio-One®	Sarstedt S-Monovette®
1º	Sem aditivo	não é necessária	5 a 8 vezes	10 vezes
2º	Citrato de sódio	5 a 8 vezes	5 a 8 vezes	10 vezes
3º	Pró-coagulante e/ou gel separador	5 a 8 vezes	5 a 8 vezes	10 vezes
4º	Heparina	8 a 10 vezes	5 a 8 vezes	10 vezes
5º	EDTA	8 a 10 vezes	5 a 8 vezes	10 vezes
6º	Inibidor glicolítico, NaF	8 a 10 vezes	5 a 8 vezes	10 vezes

Ver também Figura 9, Introdução.

Foi monitorado se o flebotomista obedeceu a seqüência pré estabelecida dos tubos de coleta no sistema a vácuo. A seqüência observada foi comparada com a preconizada pelas recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica /Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso (2005), e com a norma do NCCLS H3-A5 (2003).

4.4 Avaliação de desempenho do sistema de iluminação transdérmica (Venoscópio IV®) na coleta de sangue

O sistema de iluminação transdérmica (Venoscópio IV® , Duan Internacional do Brasil), foi o equipamento utilizado neste projeto, sendo seguidas as recomendações do fabricante para seu uso.

A empresa Duan Internacional do Brasil realizou o treinamento do flebotomista que participou de todos os estudos envolvendo este equipamento.

Na avaliação de desempenho do sistema de iluminação transdérmica (Venoscópio IV®) na coleta de sangue foram observados os seguintes aspectos:

- habilidade do flebotomista em manipular o equipamento após treinamento;
- dificuldades encontradas pelo flebotomista;
- incidência de nova coleta do espécime diagnóstico coletado com o sistema de iluminação trans-dérmica, e
- incidência de acesso arterial acidental utilizando o sistema de iluminação trans-dérmica.

4.5 Avaliação do efeito da estase venosa em ensaios laboratoriais de rotina

O efeito do tempo de estase venosa sobre resultados laboratoriais foi avaliado através da coleta de sangue com uso do sistema de iluminação transdérmica

Venoscópio IV®, considerado sem estase, e após aplicação do torniquete durante intervalos de tempo pré-estabelecidos variando entre 30 a 180 segundos em diferentes grupos de pacientes.

4.5.1 Seleção dos pacientes voluntários e formação dos grupos

A seleção dos pacientes voluntários foi aleatória, na fila do ambulatório da secção médica de laboratório clínico do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, onde foi explicado o propósito da pesquisa e assinado o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo I).

Os pacientes voluntários foram divididos aleatoriamente em 5 grupos (G30, G60, G90, G120 e G180), constituídos por 50 pacientes cada. Os tempos de aplicação do torniquete foram: 30, 60, 90, 120 e 180 segundos, respectivamente.

4.5.2 Padronização do procedimento de coleta das amostras de sangue venoso

Inicialmente os pacientes foram acomodados sentados, em poltrona de coleta por 15 minutos. Após este tempo, foi realizada a assepsia do sítio de punção, com álcool 70%. Cerca de 15 mL de sangue venoso foi coletado em sistema de coleta a vácuo (BD Vacutainer™, Becton Dickinson, Reino Unido), utilizando-se o sistema de iluminação transdérmica no braço esquerdo do paciente, sem a presença do torniquete e em seguida, o torniquete foi aplicado no braço direito do mesmo paciente. O tempo de aplicação do torniquete foi de 30, 60, 90, 120 e 180 segundos e mensurado de modo padronizado por uso de cronômetro, seguido da punção venosa, com a coleta de 15 mL de sangue no mesmo sistema de coleta a vácuo.

Foi utilizado o tubo com aditivo pró-coagulante e gel separador (SST™ II, Becton Dickinson, Reino Unido) e todos os tubos a vácuo e agulhas utilizados neste trabalho pertenciam ao mesmo lote, ampliando a padronização do procedimento.

Após a coleta do sangue venoso, um curativo oclusivo foi colocado no sítio de punção (Blood Stop®, AMP Soluções Terapêuticas Ltda, Brasil). O paciente foi

orientado acerca das eventuais intercorrências devidas à coleta de sangue, procedimento padrão para esta atividade, sendo oferecidos desjejum e água aos que desejassem.

4.5.3 Processamento e armazenamento das amostras.

Após a coleta os tubos foram deixados em repouso por um período entre 30 e 60 minutos e centrifugados a 2.000g por 15 minutos. O soro obtido foi aliquoteado em tubos de congelamento, *cryotube*, (Corning® 2mL com rosca interna e anel de vedação), e congelado a -80°C. As amostras foram descongeladas uma única vez, imediatamente antes das análises.

4.5.4 Otimização do procedimento analítico.

Os equipamentos automatizados utilizados nas análises foram validados através do uso de controles de qualidade interno com concentrações dos analitos na amplitude normal e patológica.

Os coeficientes de variação analítica (CVa) para os parâmetros estudados, foram obtidos a partir de resultados de soros controles utilizados no controle da qualidade interno, analisados em gráficos do tipo Levey-Jennings e respeitando as regras propostas por Westgard (WESTGARD sítio na internet).

O sistema automatizado escolhido, VITROS 5.1 FS *Chemistry System* (Ortho-Clinical Diagnostics – Johnson & Johnson Company, New Jersey, Estados Unidos) apresentou coeficiente de variação analítico menor ou igual a 2,5%. Todas as quantificações foram realizadas em duplicatas. Para os estudos sobre a estase venosa, as amostras obtidas na presença de iluminação transdérmica e após a aplicação do torniquete foram analisadas simultaneamente na mesma corrida para minimizar o efeito da imprecisão analítica.

4.5.5 Determinação analítica dos ensaios laboratoriais de rotina em bioquímica clínica avaliados

As quantificações dos analitos em estudo foram realizadas no sistema automatizado VITROS 5.1 FS *Chemistry System* (Ortho-Clinical Diagnostics – Johnson & Johnson Company, New Jersey, Estados Unidos), no laboratório clínico do Hospital Israelita Albert Einstein na cidade de São Paulo, utilizando reagentes, calibradores e protocolos preconizados pelo fabricante do equipamento..

As metodologias utilizadas para cada parâmetro laboratorial estão listadas na Tabela 6.

TABELA 6: ANALITOS E METODOLOGIAS EMPREGADAS NO ESTUDO

Analitos	Métodos
Albumina	Verde de Bromocresol
Cálcio total	Arsenazo III
Colesterol total	Colesterol oxidase/peroxidase
Fosfatase alcalina	<i>p</i> -nitrofenilfosfato cinético
Fósforo	<i>p</i> -metilaminofenol
Glicose	Glicose oxidase/peroxidase
Magnésio	Formazana
Potássio	Potenciometria direta
Proteínas totais	biureto
Sódio	Potenciometria direta
Triglicérides	Lipase/GPO/Peroxidase

4.6 Análises estatísticas

Foram utilizadas estatísticas descritivas (média, desvio padrão, mediana, amplitude de variação), análises de frequência e o teste “t” pareado nas análises. Para analitos que não apresentaram distribuição normal (triglicérides) foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

As comparações entre variáveis descontínuas foram realizadas com o teste exato de Fisher bidirecional utilizando o programa RxC (Miller, 1994).

Estatísticos do laboratório de estatística e epidemiologia (LEE) do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia colaboraram nas análises estatísticas. Foram utilizados os programas computacionais estatísticos: *Statistica for Windows* versão 5.5 (StatSoft Inc., Tulsa, Estados Unidos) e *Statistical Packed for Social Science* (SPSS) versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos)

Para todas as análises, foi considerada uma probabilidade significativa um valor menor que 5% ($p < 0,05$).

As diferenças no estudo do efeito da aplicação do torniquete comparado ao uso do sistema de iluminação transdérmica foram calculadas com a equação abaixo:

$$\% \text{ da diferença} = \{[m\acute{e}dia \text{ com torniquete } (T) \times 100 / m\acute{e}dia \text{ com venosc\acute{o}pio } (V)] - 100\}$$

Os valores para avaliação da coleta com torniquete (T) e com o Venoscópio (V) foram obtidos por análise quantitativa em duplicata dos analitos em estudo, visando minimizar o impacto do coeficiente de variação analítica.

5. RESULTADOS

5.1 Seleção dos laboratórios

Para o processo de seleção dos 10 laboratórios estudados neste trabalho, foram avaliados 37, sendo que 27 (72,97%) foram excluídos por não preencherem algum dos quesitos entre os critérios de inclusão.

A tabela 7 descreve a frequência dos elementos dos critérios de inclusão que não foram atendidos pelos laboratórios excluídos da pesquisa.

TABELA 7. FREQUÊNCIA DOS CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO NO PROCESSO DE SELEÇÃO DOS LABORATÓRIOS

Critérios de exclusão	N	Frequência (%)
Não apresentar sistemas automatizados no laboratório.	2	5,4
Não realizar controle interno na amplitude normal e patológica pelo menos uma vez ao dia	11	29,7
O operador técnico (nível médio ou superior) não possuía treinamento operacional certificado pelo fabricante ou distribuidor do equipamento	20	54,1
Não possuir manual da qualidade.	27	72,9
Não participar de programas de controle de qualidade externo ou ensaios de proficiência.	27	72,9

5.2 Desempenho dos flebotomistas

Os tempos de aplicação do torniquete de 30 flebotomistas foram medidos em cinco coletas independentes. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 8 e 9, respectivamente, para laboratórios de administração pública e privada. A Figura 10 compara a média e o desvio padrão (DP) de todos os flebotomistas avaliados.

TABELA 8. DESEMPENHO DE 15 FLEBOTOMISTAS DE LABORATÓRIOS COM ADMINISTRAÇÃO PÚBLICA QUANTO AO TEMPO DE APLICAÇÃO DO TORNIQUETE

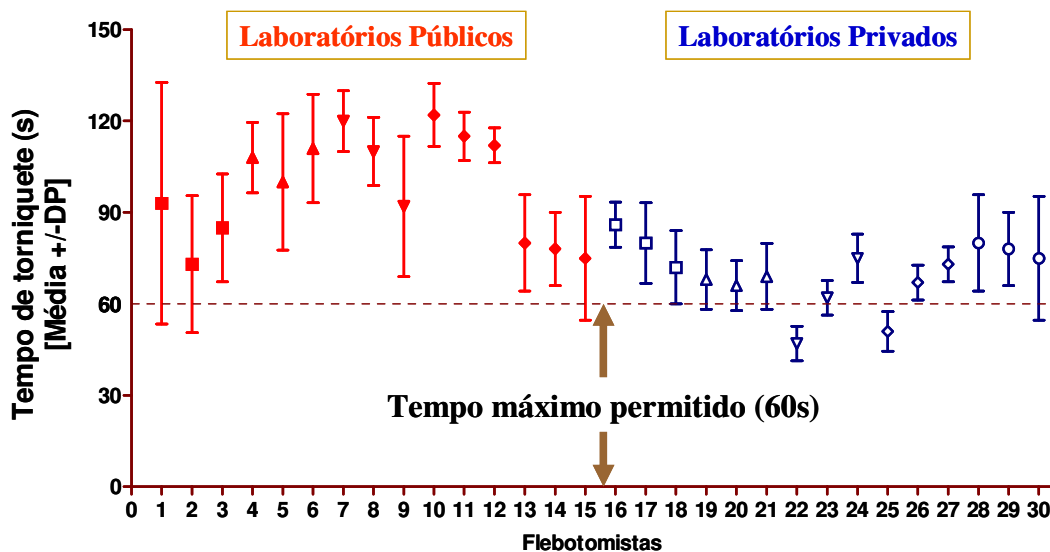
Lab.	Fleb.	Tempo de aplicação do torniquete em segundos						
		1º medida	2º medida	3º medida	4º medida	5º medida	Média ± DP	AV
1	1	160	70	80	95	60	93±39,6	60-160
	2	100	80	85	55	45	73±22,5	45-100
	3	90	75	95	105	60	85±17,7	60-105
2	4	110	115	105	120	90	108±11,5	90-115
	5	105	110	125	95	65	110±22,4	65-125
	6	90	115	130	125	95	111±17,8	90-130
3	7	125	130	115	125	105	120±10,0	105-130
	8	95	105	125	115	110	110±11,2	95-125
	9	130	85	95	80	70	92±23,1	70-130
4	10	135	130	115	120	110	122±10,4	110-135
	11	125	110	120	105	115	115±7,9	105-125
	12	110	105	115	110	120	112±5,7	105-120
5	13	75	55	85	95	90	80±15,8	55-90
	14	85	70	75	65	95	78±12,0	65-95
	15	85	70	105	55	60	75±20,3	55-105
Total							98,9±17,3	45-160

TABELA 9. DESEMPELHO DE 15 FLEBOTOMITAS DE LABORATÓRIOS COM ADMINISTRAÇÃO PRIVADA QUANTO AO TEMPO DE APLICAÇÃO DO TORNIQUETE

Lab.	Fleb.	Tempo de aplicação do torniquete em segundos						
		1º medida	2º medida	3º medida	4º medida	5º medida	Média ±DP	AV
1	16	85	75	90	85	95	86±7,4	75-95
	17	95	85	75	60	85	80±13,2	60-95
	18	80	85	55	65	75	72±12,0	55-85
2	19	75	65	55	65	80	68±9,7	55-80
	20	75	70	60	55	70	66±8,2	55-75
	21	60	65	60	85	75	69±10,8	60-85
3	22	55	45	40	45	50	<u>47±5,7</u>	40-55
	23	65	60	70	55	60	62±5,7	55-70
	24	75	65	70	80	85	75±7,9	65-85
4	25	55	45	60	45	50	<u>51±6,5</u>	45-60
	26	65	75	70	65	60	67±5,7	60-75
	27	75	75	70	80	65	73±5,7	65-80
5	28	75	55	85	95	90	80±15,8	55-95
	29	85	70	75	65	95	78±12,0	65-95
	30	85	70	105	55	60	75±20,3	55-105
Total							69,9±10,9	40-105

Em destaque (negrito sublinhado) os dois flebotomistas que realizaram todas as coletas dentro do tempo recomendado máximo de 60 segundos.

FIGURA 10. COMPARAÇÃO DO DESEMPENHO DOS FLEBOTOMISTAS QUANTO AO TEMPO DE APLICAÇÃO DO TORNIQUETE EM LABORATÓRIOS PÚBLICOS E PRIVADOS.



A figura mostra o desempenho (média \pm desvio padrão) dos 30 flebotomistas avaliados, com dados obtidos das Tabelas 9 e 10. Os símbolos fechados caracterizam laboratórios de administração pública, enquanto os abertos aqueles de administração privada. Símbolos iguais representam o mesmo laboratório. A linha pontilhada em 60 segundos mostra o tempo máximo permitido para a aplicação do torniquete.

O tempo médio de aplicação do torniquete foi diferente quando comparados os serviços público e privado em estudo (Tabelas 8 e 9). Flebotomistas de instituições privadas apresentaram tempo médio ($69,9 \pm 10,6$) significativamente menor ($p < 0,001$) que flebotomistas do serviço público ($98,9 \pm 17,3$). Apenas dois flebotomistas, pertencentes a duas instituições privadas distintas apresentaram em todas as coletas analisadas ($n=5$) tempos de aplicação do torniquete dentro do esperado ($< 60s$).

5.3 Fontes de erro associadas à coleta de sangue nos laboratórios em estudo

A Tabela 10 descreve a frequência dos erros observados durante a avaliação de desempenho dos 30 flebotomistas por ocasião da coleta de sangue venoso periférico.

TABELA 10. FREQUÊNCIA DOS ERROS OBSERVADOS DURANTE A AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO DOS 30 FLEBOTOMISTAS DURANTE A COLETA DE SANGUE VENOSO PERIFÉRICO.

N = 30	Flebotomistas				*P
	Laboratório Público		Laboratório Privado		
Descrição do erro	N	%	N	%	
Incorreta homogeneização dos tubos	15	100	10	66,7	<u>0,042</u>
Incorreta solicitação da constrição do músculo do antebraço	15	100	12	80	0,224
Erro na seqüência dos tubos de coleta com diferentes aditivos	15	100	12	80	0,224
Erro ao friccionar o antebraço durante a anti-sepsia	14	93,3	15	100	0,999

teste exato de Fisher

5.4 Avaliação de desempenho do sistema de iluminação transdérmica na coleta de sangue

Os flebotomistas levaram aproximadamente uma semana para adaptarem-se ao à manipulação adequada do sistema de iluminação transdérmica (Venoscópio IV) nas coletas de sangue e este período foi considerado suficiente como tempo de treinamento para este equipamento.

As principais dificuldades observadas na implantação do sistema de iluminação transdérmica em relação aos flebotomista, durante o período de treinamento, foram comparadas após uma semana de uso supervisionado do sistema (Tabela 11).

TABELA 11. DIFICULDADES ENFRENTADAS PELO FLEBOTOMISTA NA UTILIZAÇÃO DO SISTEMA DE ILUMINAÇÃO TRANSDÉRMICA (VENOSCÓPIO IV) ANTES E APÓS PERÍODO DE TREINAMENTO (1 SEMANA) COM O EQUIPAMENTO.

Dificuldades dos flebotomista	Frequência (%)	
	Pré-Treinamento	Pós-Treinamento
Assepsia do sítio de punção com o iluminador transdérmico fixado	90	0,5
Insucesso na punção em veias de maior mobilidade (veias fugidias ou “bailarinas”)	80	60
Falta de habilidade para fixar o iluminador transdérmico e manipular o sistema de coleta à vácuo simultaneamente	80	2
Não identificar a imagem do vaso a ser puncionado*	58	3
Redução e/ou interrupção do fluxo de sangue durante a coleta com sistema a vácuo.	25	25
Transfixação do vaso	20	5

* ver Figura 7.

5.4.1 Incidência de nova coleta do espécime diagnóstico coletado com o sistema de iluminação transdérmica

A Tabela 12 descreve a frequência de não conformidades que condicionaram a necessidade de nova coleta de sangue (recoleta) em 40 pacientes voluntários submetidos à coleta com uso do sistema de iluminação transdérmica (Venoscópio IV).

TABELA 12. FREQUÊNCIA DE NÃO CONFORMIDADES QUE GERARAM NOVA COLETA COM A UTILIZAÇÃO DO SISTEMA DE ILUMINAÇÃO TRANSDÉRMICA (VENOSCÓPIO IV)

Número total de coletas = 250*	Incidência de nova coleta	
	N	(%)
Redução e/ou interrupção do fluxo de sangue em sistema de coleta à vácuo.	25	10,0
Erro de punção em veias fugidias	6	2,4
Luminosidade inadequada para observar o vaso a ser puncionado	4	1,6
Falta de habilidade para fixar o iluminador transdérmico e manipular o sistema de coleta à vácuo simultaneamente	3	1,2
Transfixação do acesso venoso periférico	2	0,8

*Foram encontrados 10 pacientes (4% do total) com veias fugidias sendo que em 6 houve necessidade de nova coleta.

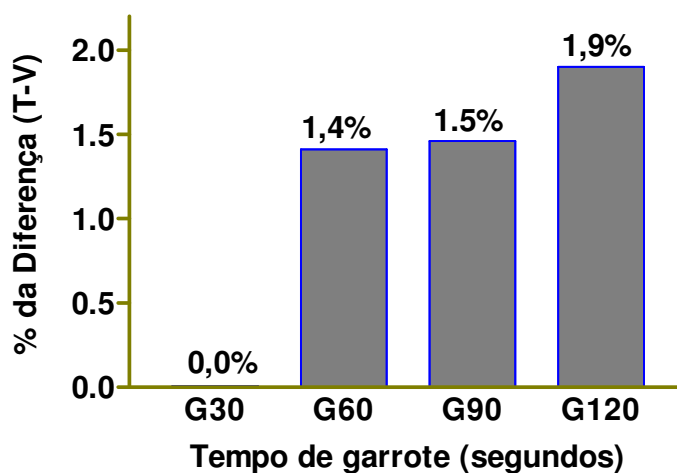
5.5 Estudo do efeito da estase venosa em ensaios laboratoriais

Os efeitos da estase venosa podem ser observados nas Tabelas 13 a 23 e nas figuras 11 a 21.

TABELA 13– EFEITO DO TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO DA GLICOSE SÉRICA

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (mg/dL)	Diferença média	<i>p</i>
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	104,32 ± 62,21	0,06	0,074
		Venoscópio	104,26 ± 62,22		
G60 (n=50)	60 s	Torniquete	98,61 ± 22,49	1,37	<u>0,011</u>
		Venoscópio	97,24 ± 21,99		
G90 (n=50)	90 s	Torniquete	87,37 ± 18,35	1,26	<u><0,001</u>
		Venoscópio	86,11 ± 18,28		
G120 (n=50)	120 s	Torniquete	104,72 ± 49,73	1,95	0,100
		Venoscópio	102,77 ± 50,77		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	---	---	---
		Venoscópio	----	----	----

FIGURA 11. PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE GLICOSE

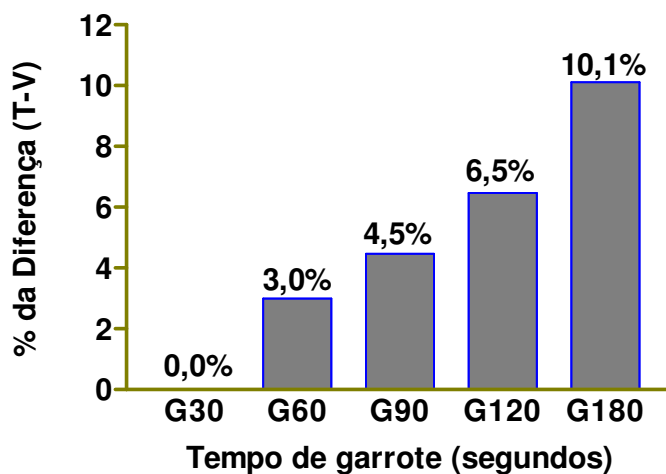


A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação: $\{[m\u00e9dia \text{ com torniquete (T)} \times 100 / m\u00e9dia \text{ com venosc\u00f3pio (V)}] - 100\}$, para cada grupo em estudo.

TABELA 14 – EFEITO DO TEMPO DA ESTASE VENOSA NA DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS SÉRICA

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (g/dL)	Diferença média	p
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	8,49 ± 0,75	0,00	0,15
		Venoscópio	8,49 ± 0,75		
G60 (n=50)	60 s	Torniquete	7,24 ± 0,57	0,21	<0,001
		Venoscópio	7,03 ± 0,43		
G90 (n=50)	90 s	Torniquete	7,94 ± 0,60	0,35	<0,001
		Venoscópio	7,60 ± 0,56		
G120 (n=50)	120 s	Torniquete	7,74 ± 0,61	0,46	<0,001
		Venoscópio	7,27 ± 0,49		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	8,49 ± 0,75	0,78	<0,001
		Venoscópio	7,71 ± 0,58		

FIGURA 12. PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PROTEÍNAS TOTAIS

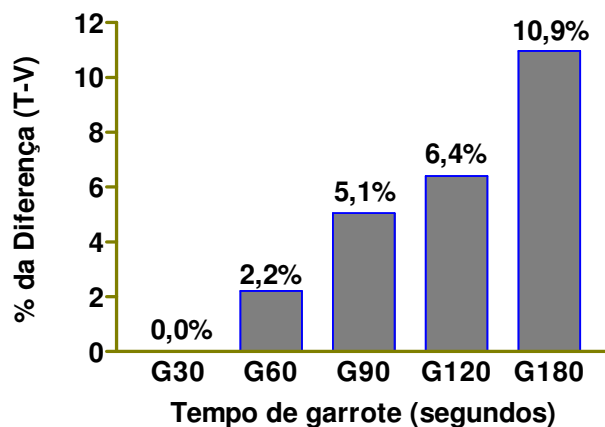


A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação: $\{[m\u00e9dia\ com\ torniquete\ (T) \times 100 / m\u00e9dia\ com\ venosc\u00f3pio\ (V)] - 100\}$, para cada grupo em estudo.

TABELA 15 – EFEITO DO TEMPO DA ESTASE VENOSA NA DETERMINAÇÃO DE ALBUMINA SÉRICA

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (g/dL)	Diferença média	p
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	5,16 ± 0,58	0,00	0,149
		Venoscópio	5,15 ± 0,58		
G60 (n=50)	60 s	Torniquete	4,16 ± 0,33	0,09	<0,001
		Venoscópio	4,07 ± 0,31		
G90 (n=50)	90 s	Torniquete	4,78 ± 0,50	0,23	<0,001
		Venoscópio	4,55 ± 0,43		
G120 (n=50)	120 s	Torniquete	4,48 ± 0,51	0,27	<0,001
		Venoscópio	4,21 ± 0,42		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	5,16 ± 0,58	0,50	<0,001
		Venoscópio	4,65 ± 0,49		

FIGURA 13. PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ALBUMINA

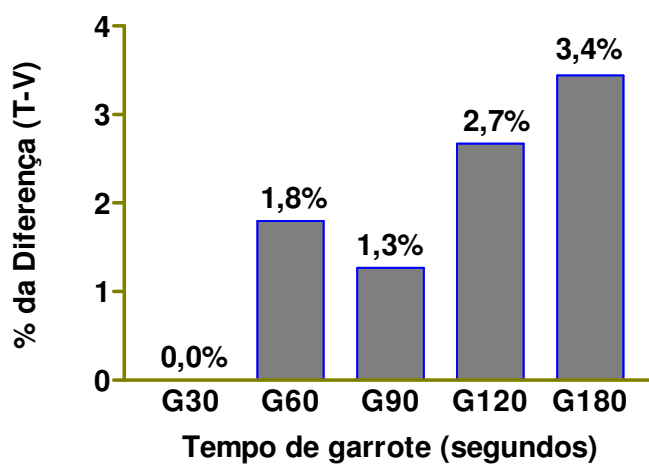


A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação: $\{[m\u00e9dia \text{ com torniquete (T)} \times 100 / m\u00e9dia \text{ com venosc\u00f3pio (V)}] - 100\}$, para cada grupo em estudo.

TABELA 16 – EFEITO DO TEMPO DA ESTASE VENOSA NA DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO TOTAL SÉRICO

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (mg/dL)	Diferença média	p
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	10,21 ± 0,57	0,00	0,149
		Venoscópio	10,21 ± 0,57		
G60 (n=50)	60 s	Torniquete	9,02 ± 0,35	0,16	<0,001
		Venoscópio	8,86 ± 0,34		
G90 (n=50)	90 s	Torniquete	9,56 ± 0,50	0,12	<0,001
		Venoscópio	9,44 ± 0,51		
G120 (n=50)	120 s	Torniquete	9,51 ± 0,77	0,25	<0,001
		Venoscópio	9,26 ± 0,75		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	10,21 ± 0,57	0,35	<0,001
		Venoscópio	9,87 ± 0,46		

FIGURA 14 PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNIQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CÁLCIO TOTAL

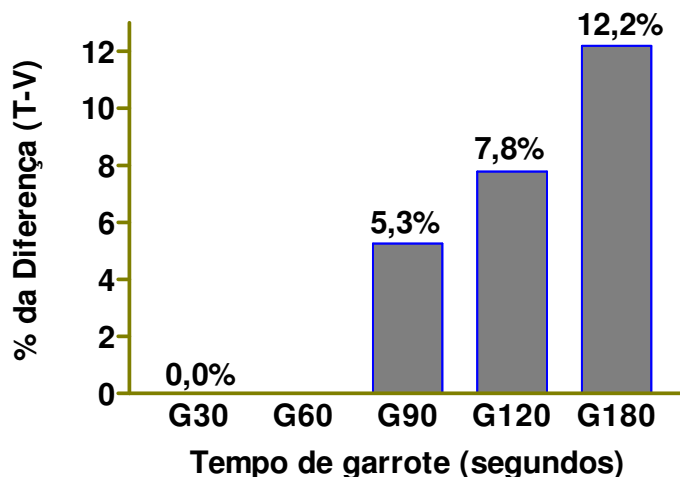


A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação:
 $\left\{ \left[\frac{\text{média com torniquete (T)} \times 100}{\text{média com venoscópio (V)}} \right] - 100 \right\}$, para cada grupo em estudo.

TABELA 17 – EFEITO DO TEMPO DA ESTASE VENOSA NA DETERMINAÇÃO DE COLESTEROL TOTAL SÉRICO

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (mg/dL)	Diferença média	p
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	214,38 ± 67,23	0,04	0,149
		Venoscópio	214,34 ± 67,26		
G60	60 s	Torniquete	---	---	---
		Venoscópio	---		
G90 (n=50)	90 s	Torniquete	193,33 ± 34,33	9,67	<u><0,001</u>
		Venoscópio	183,67 ± 32,45		
G120 (n=50)	120 s	Torniquete	192,06 ± 48,88	13,88	<u><0,001</u>
		Venoscópio	178,19 ± 44,77		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	214,38 ± 67,23	23,30	<u><0,001</u>
		Venoscópio	191,08 ± 60,99		

FIGURA 15. PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE COLESTEROL TOTAL

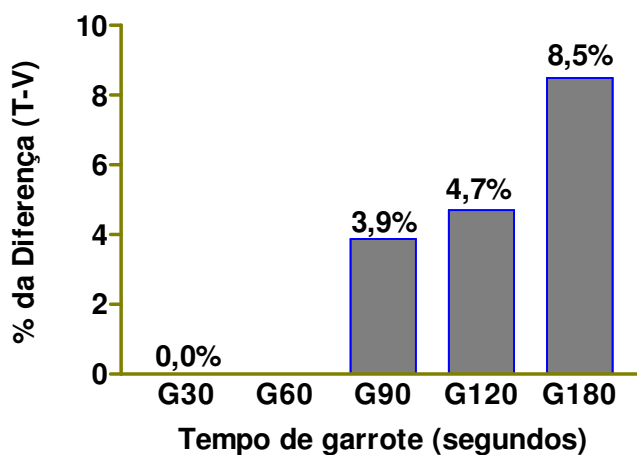


A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação: $\left\{ \frac{\text{média com torniquete (T)} \times 100}{\text{média com venoscópio (V)}} - 100 \right\}$, para cada grupo em estudo.

TABELA 18 – EFEITO DO TEMPO DA ESTASE VENOSA NA DETERMINAÇÃO DO TRIGLICÉRIDES SÉRICO

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (mg/dL)	Diferença média	p
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	146,70	0,00	0,149
		Venoscópio	146,70		
G60	60 s	Torniquete	---	---	---
		Venoscópio	---		
G90 (n=36)	90 s	Torniquete	149,14 ± 122,16	5,56	<0,001
		Venoscópio	143,58 ± 121,32		
G120 (n=32)	120 s	Torniquete	143,31 ± 83,51	6,44	0,07
		Venoscópio	136,88 ± 73,51		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	146,70 ± 94,44	11,48	<0,001
		Venoscópio	135,22 ± 94,24		

FIGURA 16. PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE TRIGLICÉRIDES

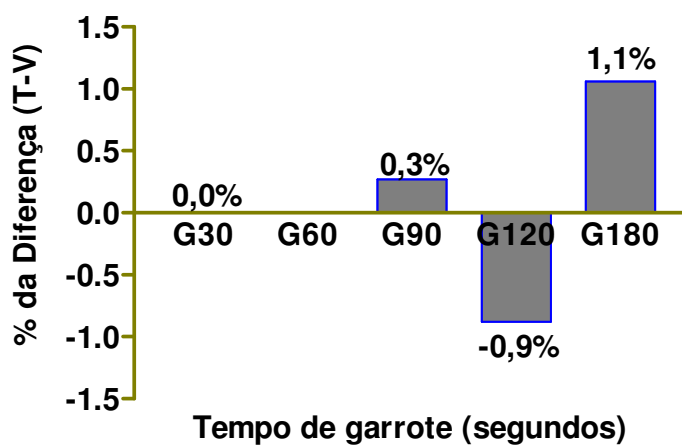


A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação: $\left\{ \left[\frac{\text{média com torniquete (T)} \times 100}{\text{média com venoscópio (V)}} \right] - 100 \right\}$, para cada grupo em estudo.

TABELA 19 – EFEITO DO TEMPO DA ESTASE VENOSA NA DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO SÉRICO

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (mg/dL)	Diferença média	<i>p</i>
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	3,83 ± 0,54	0,00	0,149
		Venoscópio	3,83 ± 0,53		
G60	60 s	Torniquete	---	---	---
		Venoscópio	---		
G90 (n=36)	90 s	Torniquete	3,65 ± 0,55	0,01	0,723
		Venoscópio	3,64 ± 0,51		
G120 (n=32)	120 s	Torniquete	3,37 ± 0,65	-0,03	0,169
		Venoscópio	3,40 ± 0,64		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	3,83 ± 0,54	0,04	<u>0,007</u>
		Venoscópio	3,79 ± 0,51		

FIGURA 17. PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE FÓSFORO



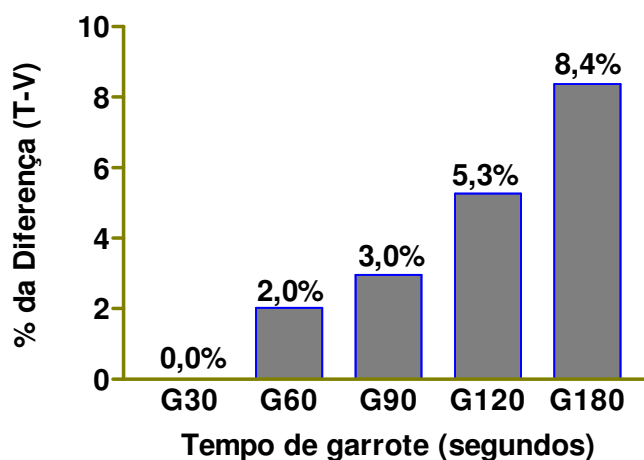
A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação:

$$\left\{ \frac{\text{média com torniquete (T)} \times 100}{\text{média com venoscópio (V)}} - 100 \right\}$$
, para cada grupo em estudo.

TABELA 20 – EFEITO DO TEMPO DA ESTASE VENOSA NA DETERMINAÇÃO DE FOSFATASE ALCALINA SÉRICA

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (U/L)	Diferença média	p
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	108,46 ± 32,75	0,04	0,149
		Venoscópio	108,42 ± 32,80		
G60 (n=50)	60 s	Torniquete	99,16 ± 110,54	1,96	<0,001
		Venoscópio	97,20 ± 107,53		
G90 (n=50)	90 s	Torniquete	92,20 ± 22,75	2,65	<0,001
		Venoscópio	89,55 ± 22,45		
G120 (n=50)	120 s	Torniquete	88,76 ± 32,79	4,44	<0,001
		Venoscópio	84,32 ± 31,16		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	108,46 ± 32,75	8,38	<0,001
		Venoscópio	100,08 ± 30,97		

FIGURA 18. PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA ATIVIDADE SÉRICA DE FOSFATASE ALCALINA

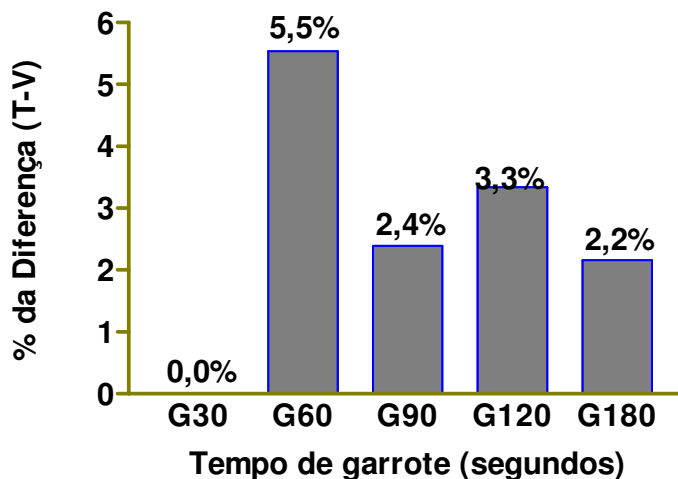


A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação: $\left\{ \frac{\text{média com torniquete (T)} \times 100}{\text{média com venoscópio (V)}} - 100 \right\}$, para cada grupo em estudo.

TABELA 21 – EFEITO DO TEMPO DA ESTASE VENOSA NA DETERMINAÇÃO DO POTÁSSIO SÉRICO

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (mmol/L)	Diferença média	p
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	4,25 ± 0,49	0,00	0,149
		Venoscópio	4,25 ± 0,49		
G60 (n=50)	60 s	Torniquete	4,57 ± 0,42	0,24	<0,001
		Venoscópio	4,33 ± 0,42		
G90 (n=49)	90 s	Torniquete	4,28 ± 0,43	0,09	<0,001
		Venoscópio	4,18 ± 0,41		
G120 (n=50)	120 s	Torniquete	4,33 ± 0,45	0,15	<0,001
		Venoscópio	4,19 ± 0,37		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	4,25 ± 0,49	0,09	<0,001
		Venoscópio	4,16 ± 0,45		

FIGURA 19. PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNIQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE POTÁSSIO

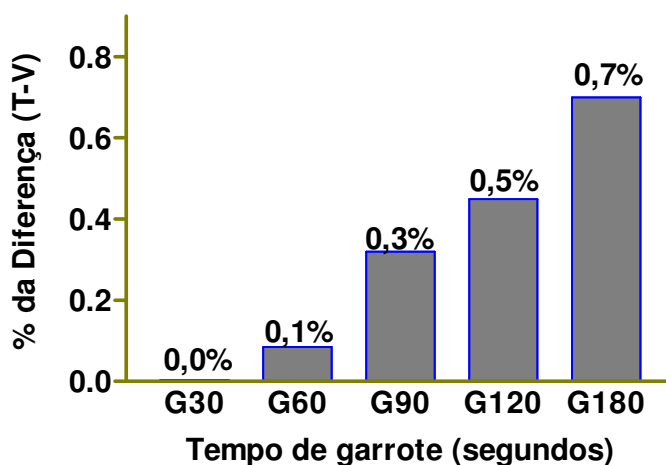


A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação: $\left\{ \frac{\text{média com torniquete (T)} \times 100}{\text{média com venoscópio (V)}} - 100 \right\}$, para cada grupo em estudo.

TABELA 22 – EFEITO DO TEMPO DA ESTASE VENOSA NA DETERMINAÇÃO DO SÓDIO SÉRICO

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (mmol/L)	Diferença média	p
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	143,98 ± 3,01	0,04	0,149
		Venoscópio	143,94 ± 3,03		
G60 (n=50)	60 s	Torniquete	140,97 ± 4,03	0,12	0,593
		Venoscópio	140,85 ± 3,81		
G90 (n=50)	90 s	Torniquete	142,68 ± 3,22	0,46	<0,001
		Venoscópio	142,22 ± 3,21		
G120 (n=50)	120 s	Torniquete	141,15 ± 3,37	0,63	<0,001
		Venoscópio	140,52 ± 3,11		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	143,98 ± 3,01	1,00	<0,001
		Venoscópio	142,98 ± 2,73		

FIGURA 20. PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE SÓDIO

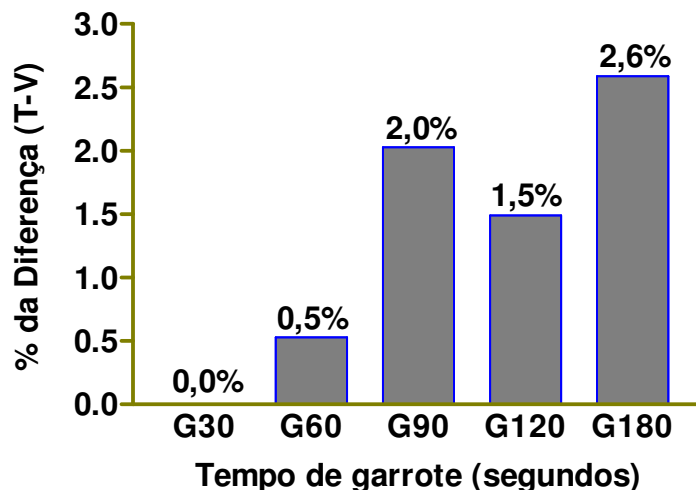


A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação: $\left\{ \frac{\text{média com torniquete (T)} \times 100}{\text{média com venoscópio (V)}} - 100 \right\}$, para cada grupo em estudo.

TABELA 23. EFEITO DO TEMPO DA ESTASE VENOSA NA DETERMINAÇÃO DE MAGNÉSIO SÉRICO

Grupo (n)	Tempo de torniquete (segundos)	Tratamentos	Média ± DP (mg/dL)	Diferença média	p
G30 (n=50)	30 s	Torniquete	1,93 ± 0,21	0,00	>0,05
		Venoscópio	1,93 ± 0,21		
G60 (n=50)	60 s	Torniquete	1,91 ± 0,15	0,02	<u>0,011</u>
		Venoscópio	1,90 ± 0,16		
G90 (n=50)	90 s	Torniquete	2,01 ± 0,17	0,04	<u><0,001</u>
		Venoscópio	1,97 ± 0,18		
G120 (n=50)	120 s	Torniquete	2,04 ± 0,16	0,03	<u><0,002</u>
		Venoscópio	2,01 ± 0,15		
G180 (n=50)	180 s	Torniquete	1,98 ± 0,22	0,05	<u><0,001</u>
		Venoscópio	1,93 ± 0,21		

FIGURA 21. PORCENTAGEM DA DIFERENÇA ENTRE TORNIQUETE (T) E VENOSCÓPIO (V) COM O TEMPO DE ESTASE VENOSA NA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MAGNÉSIO



A Porcentagem da diferença foi calculada com a equação:

$$\left\{ \frac{\text{média com torniquete (T)} \times 100}{\text{média com venoscópio (V)}} - 100 \right\}$$
, para cada grupo em estudo.

A Tabela 24 sumariza os dados do efeito do tempo de torniquete em ensaios laboratoriais.

TABELA 24 - SUMÁRIO DO EFEITO DO TEMPO DE APLICAÇÃO DO TORNIQUETE NOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS ESTUDADOS

Tabelas	Analitos	% Variação Torniquete – Venoscópio				
		G30	G60	G90	G120	G180
14	Glicose	0,0	1,4	1,5	1,9	---
15	Proteínas Totais	0,0	3,0	4,5	6,5	10,1
16	Albumina	0,0	2,2	5,1	6,4	10,9
18	Colesterol total	0,0	---	5,3	7,8	12,2
18	Cálcio total	0,0	1,8	1,3	2,7	3,4
19	Triglicérides	0,0	---	3,9	4,7	8,5
20	Fósforo	0,0	---	0,3	-0,9	1,1
21	Fosfatase Alcalina	0,0	2,0	3,0	5,3	8,4
22	Potássio	0,0	5,5	2,4	3,3	2,2
23	Sódio	0,0	0,1	0,3	0,5	0,7
24	Magnésio	0,0	0,5	2,0	1,5	2,6

As linhas em destaque caracterizam analitos com massa molecular elevada (proteínas, fosfatase alcalina), moléculas associadas a partículas de massa molecular elevada (colesterol e triglicérides) e molécula pequena associada à proteína (cálcio total)

6. DISCUSSÃO

A fase pré-analítica compreende os procedimentos associados ao preparo do paciente, coleta da amostra e seu transporte para a fase analítica do processo (LIPPI et al, 2006c).

Múltiplos estudos apontam a fase pré-analítica como o sítio responsável por cerca de 70% dos erros associados aos ensaios laboratoriais (LIPPI et al, 2006d). Portanto, é esperado que todos os esforços na padronização e controle da fase pré-analítica promovam uma significativa melhoria no sistema da qualidade e por consequência na confiabilidade dos resultados laboratoriais.

Neste estudo, avaliei o processo de flebotomia e o seu impacto como fonte de variação sobre os resultados laboratoriais.

6.1 Seleção dos laboratórios

O desenho experimental deste projeto contemplou um total de dez laboratórios (n=10), sendo cinco sob administração pública e o mesmo número sob administração privada.

No processo de seleção dos laboratórios, foram avaliados ao todo 37 serviços, todos com estrutura física semelhante e processamento de mais de 50.000 exames por mês.

A Tabela 3 mostra os critérios utilizados no processo de seleção dos laboratórios para este estudo. Embora o tamanho amostral restrito, destaca-se entre os motivos de não inclusão, com mais de 70% de frequência o fato dos laboratórios não possuírem “manual da qualidade” ou “não participarem de programas de controle da qualidade externo”. A falta do manual da qualidade, em frequência tão expressiva de laboratórios, foi uma observação surpreendente, face ao número de exames realizados por estes laboratórios e sugere que muitas instituições não têm a prática de formalizar seus procedimentos em manuais e ou comparar seus resultados com outros

laboratórios, procedimentos sabidamente essenciais para a gestão da qualidade laboratorial.

Por outro lado, o elevado número de laboratórios que não participam de programas de controle de qualidade externo é reconhecido pelas duas principais sociedades provedoras destes programas no Brasil (Sociedade Brasileira de Análises Clínicas com o Programa Nacional de Controle de Qualidade e a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica /Medicina Laboratorial com o programa Proficiência em Ensaios Laboratoriais fornecido pela ControlLab). Embora sem uma análise mais aprofundada, é estimado que os programas de controle da qualidade externo são realizados por apenas um terço dos laboratórios nacionais, (PNCQ e ControlLab, 2007). Esta constatação é confirmada pelos dados deste estudo e certamente recomendam uma ação mais enérgica dos órgãos gestores de saúde pública a fim de orientar e cobrar que estes elementos primordiais da qualidade estejam em todos os laboratórios. Não se pode conceber um laboratório com premissas de qualidade sem um manual da qualidade ou sem participar de um programa de controle externo da qualidade.

6.2 Desempenho dos flebotomistas

O tempo de aplicação do torniquete, também conhecido como garrote, pode afetar significativamente o resultado de múltiplos analitos, (WALLIN et al, 2008). A estase venosa gerada no processo de aplicação do torniquete conduz a hemoconcentração (LIMA-OLIVEIRA et al, 2007a; LIMA-OLIVEIRA et al, 2007b).

O tempo máximo de 60 segundos para aplicação do torniquete, procedimento que facilita a localização do vaso a ser puncionada, está bem estabelecido na literatura (NCCLS H3-A5, 2003). Embora esta informação seja de conhecimento dos profissionais atuantes nos laboratórios avaliados e fazer parte do processo de treinamento dos flebotomistas, não foram evidenciados nos laboratórios avaliados neste trabalho, procedimentos para monitorar o tempo de aplicação do torniquete.

As avaliações dos tempos de aplicação do torniquete deste estudo encontram-se nas Tabelas 8 e 9 e os resultados globais estão sumarizados na Figura 10.

O tempo médio de aplicação do torniquete entre os flebotomistas dos laboratórios sob administração privada ($69,9 \pm 10,6$ s) e pública ($98,9 \pm 17,3$ s) foi significativamente diferente ($p < 0,001$).

Outra comparação relevante é observar que os flebotomistas avaliados no sistema público, a exceção de um laboratório (Tabela 8, Lab 5: flebotomistas 13,14 e 15), todos ultrapassaram em alguma coleta o tempo de 120 segundos, o dobro do tempo máximo permitido. Este fato não foi observado nos laboratórios de gerenciamento privado (Tabela 9).

Apenas dois flebotomistas, pertencentes a laboratórios privados distintos, foram capazes de consistentemente manter o tempo de torniquete dentro do esperado (< 60 s) em todas as coletas (Figura 10, flebotomistas 22 e 25).

É possível sugerir que a não conformidade associada ao tempo de aplicação do garrote é um elemento comum aos laboratórios analisados. Também é pertinente supor que este problema possa ter uma amplitude maior na prática diária dos laboratórios estudados do que a dimensionada neste estudo, face a terem sido excluídos do estudo pacientes com características de veias de difícil punção, como obesos, crianças e idosos.

Uma investigação específica sobre o tempo de aplicação do torniquete e demais elementos associados à coleta em pacientes que apresentem potenciais dificuldades na venipunção fica sugerido para novos e relevantes estudos.

Embora o universo amostral seja reduzido, é possível concluir que os laboratórios de administração privada produziram treinamentos mais efetivos quanto ao tempo de aplicação do torniquete em comparação com os laboratórios públicos estudados, sem, no entanto atingir completamente a meta que recomenda o tempo máximo de aplicação do torniquete inferior a 60 segundos.

6.3 Fontes de erros associadas à coleta de sangue nos laboratórios em estudo

Embora todos os laboratórios selecionados apresentassem manual da qualidade, descrevendo procedimentos apropriados para a coleta de sangue, a frequência de erros associados a este procedimento foi muito elevada (66 a 100%) nos laboratórios estudados (Tabela 10). Apenas o item homogeneização dos tubos foi significativamente menor ($p=0,042$) nos laboratórios privados quando comparados aos públicos.

Os dados permitem concluir que os programas de gestão da qualidade nos laboratórios em estudo não estão transferindo aos flebotomistas com a ênfase necessária a relevância dos itens avaliados na Tabela 10.

Também pode ser sugerida pela análise conjunta dos resultados nos itens anteriores, que se faz necessário a introdução de indicadores nos sistemas de gestão da qualidade, para avaliar os itens deste estudo. É senso comum, que procedimentos e treinamentos que não tem atrelados mecanismos apropriados de verificação de desempenho, como os observados com os tópicos anteriormente discutidos, são mais susceptíveis a falhas no processo.

6.4 Avaliação de desempenho do sistema de iluminação transdérmica na coleta de sangue

Após a constatação das dificuldades associadas ao apropriado controle do tempo de aplicação do torniquete, procurei estudar procedimentos que minimizassem ou eliminassem esta fonte de erro.

A iluminação transdérmica tem sido utilizada, embora em pequena escala, no ambiente hospitalar primariamente na identificação de extravasamento de líquido parenteral a infusão endovenosa (KATSOGRIDAKIS et al, 2008). O procedimento de iluminação transdérmica também facilita a identificação do vaso a ser puncionado e

suprime o uso do torniquete (LIMA-OLIVEIRA et al, 2007a; LIMA-OLIVEIRA et al, 2007b).

Como esta tecnologia é pouco difundida nos laboratórios e conseqüentemente entre os flebotomistas, foram realizados treinamentos para adaptação destes profissionais a esta tecnologia. As dificuldades observadas na implantação deste procedimento estão descritas na Tabela 11.

É possível concluir que as dificuldades iniciais de adaptação ao equipamento como assepsia no sítio de punção, fixação do transiluminador, identificação do vaso a ser puncionado e transfixação do vaso puncionado puderam ser solucionadas com cerca de uma semana de treinamento. Os dois principais problemas que persistiram após o treinamento são: dificuldades na punção de veias fugidias (60%) e a interrupção no fluxo de sangue (25%), elementos comuns associados à venipunção independente do uso do sistema de iluminação transdérmica.

Também foi possível observar que o sistema de iluminação transdérmica utilizado neste estudo – Venoscópio IV[®] - não introduziu no processo de coleta de sangue em sistema a vácuo novos elementos de dificuldade (Tabela 12).

Embora subjetivo, o sistema de iluminação transdérmica, foi considerado uma ferramenta útil nas coletas de pacientes que não apresentaram identificação visual ou táctil do vaso a ser puncionado. Este procedimento reduziu o número de “punções em branco” caracterizadas como após a introdução da agulha o insucesso na obtenção do fluxo de sangue.

6.5 Estudo do efeito da estase venosa em ensaios laboratoriais

Após o reconhecimento que a coleta na presença do sistema de iluminação transdérmica é factível para a rotina do laboratório e mostra-se vantajosa em algumas circunstâncias passamos a utilizar este sistema para avaliar o efeito da estase venosa, resultante do tempo de aplicação do torniquete, no resultado de ensaios laboratoriais. Considerando que a coleta realizada com a iluminação transdérmica dispensa o uso do torniquete, as amostras obtidas com este sistema foram consideradas livres do efeito da

estase venosa e representando o valor dos analitos sem esta interferência. Ensaios laboratoriais com coletas em diferentes tempos (30, 60, 90, 120 e 180 segundos) de aplicação do torniquete cuidadosamente controlados, foram comparados com amostras obtidas sem estase venosa utilizando o sistema de iluminação transdérmica Venoscópio IV[®].

6.5.1 Glicose

As concentrações de glicose sérica mostram ser pouco afetadas pelo tempo de aplicação do torniquete de até 120 segundos (< 2% de aumento). Os experimentos para 180 segundos não puderam ser analisados por problemas técnicos com as amostras (Tabela 13 e Figura 11).

Não foram observados estudos similares na literatura para comparação com nossos resultados. Sendo a molécula de glicose pequena, difusível e não ligada às proteínas, é possível supor que o processo de hemoconcentração estabelecido pela aplicação do torniquete promova um equilíbrio rápido e homogêneo da glucose na fase aquosa do plasma, de modo que sua concentração não seja expressivamente afetada. Em tese, esta mesma hipótese poderia ser aplicada para moléculas como uréia e creatinina.

6.5.2 Proteínas Totais e Albumina

O efeito da estase venosa sobre as determinações de proteínas totais e albumina observada nas Tabelas 14 e 15, seguem o modelo esperado de comportamento para moléculas de massa molecular grande e pouco difusível. Após 60 segundos da aplicação do torniquete as concentrações aumentaram significativamente ($p < 0,001$) quando comparadas com amostras obtidas com o sistema de iluminação transdérmica. Como o processo de hemoconcentração era esperado o aumento destes analitos e este estudo comprovou que um tempo de aplicação do torniquete igual ou superior a 90

segundos aumenta a concentração destes analitos com alterações de significância clínica (cerca de 5%).

Para a determinação de proteínas totais (Figura 12) a concentração aumenta de forma linear com o tempo de aplicação do torniquete com incrementos de no mínimo 1,5 pontos percentuais a cada 30 segundos após o primeiro minuto.

A concentração de albumina sérica (Figura 13) segue padrão similar ao das proteínas totais, o que era esperado, uma vez que a concentração desta molécula representa mais de 50% das proteínas totais.

Estas análises permitem sugerir que a quantificação de outras moléculas protéicas, como por exemplo, transferrina, imunoglobulinas, lipoproteínas, proteína C reativa, entre outras, que apresentem massa molecular similar ou maior que a albumina (cerca de 65000 Da) possam ser afetadas pela hemoconcentração provocada pelo uso do torniquete, com magnitude e padrão próximos aos observados neste estudo.

O padrão de alteração das proteínas observado neste estudo foi expressivamente superior ao descrito na literatura, que aponta para um aumento nas proteínas em cerca de 6,8% após 6 minutos de torniquete, Figura 5, (MILLER et al, 1992; YOUNG, 1993).

6.5.3 Cálcio total

As concentrações de cálcio total foram significativamente ($p < 0,001$) maiores com a aplicação do torniquete após 60 segundos quando comparado à coleta com iluminação transdérmica (Tabela 16), mas mesmo após 180 segundos de torniquete a diferença (3,4%) não foi clinicamente significativa se considerado o limite de 5% (Figura 14).

Nossos dados estão em consonância com outro estudo que aponta uma alteração para o cálcio total em cerca de 4% após 6 minutos de tempo de aplicação do torniquete (MILLER et al, 1992; YOUNG, 1993).

O efeito do tempo de aplicação do torniquete sobre as determinações de cálcio total sérico mostrou-se diferente do que previamente supúnhamos. Nossa premissa era

que o padrão de interferência neste ensaio seria similar ao observado para a determinação de albumina, uma vez que mais de 50% do cálcio está ligado a esta molécula (TIETZ, 1995).

A análise do padrão de interferência pela hemoconcentração do cálcio total e de proteínas sugere que outros fatores da reologia do sangue devem contribuir para que as concentrações de cálcio total não sigam o mesmo padrão das proteínas séricas. Postulamos que entre estes fatores, a acidose que se estabelece decorrente da hemoconcentração pela elevação na concentração de $p\text{CO}_2$ possa deslocar o cálcio de sua ligação com as proteínas, predominantemente com a albumina, e este por sua vez se difunda rapidamente para o espaço intersticial, conseqüentemente não apresentando uma elevação proporcional a albumina. Sugerimos que em experimentos futuros o cálcio ionizado seja avaliado em conjunto com o cálcio total, o que poderia oferecer maiores subsídios para a pertinência da hipótese apresentada.

6.5.4 Colesterol total e Triglicérides

Os lípides, como moléculas insolúveis em água, são transportados no sangue em macromoléculas designadas lipoproteínas (RIFAI et al, 1999). O padrão de interferência pela aplicação do torniquete segue o modelo esperado para moléculas grandes não difusíveis como observado nas proteínas. Neste estudo o tempo de 60 segundos não foi avaliado por problemas técnicos com a amostra neste ensaio.

As concentrações de colesterol total sérico foram significativamente diferentes ($p < 0,001$) após 90 segundos de aplicação do torniquete (Tabela 17) e as diferenças representam significância clínica ($> 5,3\%$) após este tempo, atingindo valores superiores a 12% aos 180 segundos (Figura 15).

Os triglicérides mostraram um padrão de interferência pela hemoconcentração (Tabela 18) menos acentuado quando comparado ao colesterol total. Com aplicação do torniquete até 120 segundos os valores dos triglicérides não diferiram de 5% em relação à coleta sem aplicação do torniquete (Figura 16). Como os triglicérides são transportados no plasma primariamente pelas lipoproteínas VLDL (lipoproteína de

densidade muito baixa) ou quilomicrons, partículas substancialmente maiores que a lipoproteína LDL (lipoproteína de densidade baixa), forma primária de transporte do colesterol, era esperado para estes analitos um perfil de interferência semelhante.

Na tentativa de explicar as diferenças observadas entre os padrões de interferência para o colesterol e os triglicérides, podemos elencar o efeito do glicerol livre sobre a determinação dos triglicérides. Na metodologia empregada para a quantificação dos triglicérides, não foi realizado o *blank* de glicerol, que remove a interferência do glicerol livre, cerca de 5% a 10%, na população normal.

O glicerol é difusível e seu efluxo do vaso pela hemoconcentração teria minimizado as diferenças entre o torniquete e o Venoscópio. Proponho para esclarecer esta hipótese futuros experimento com comparações dos triglicérides realizadas com métodos que considerem um *blank* de glicerol livre.

Para a determinação de colesterol total, este estudo substancia a necessidade do rigor na fase pré-analítica, justificando a aplicação do torniquete em tempo máximo de 60 segundos, caso contrário, alterações significativas serão observadas nos resultados.

6.5.5 Fósforo sérico

A determinação de fosfatemia não foi afetada significativamente ($p>0,10$) mesmo após 120 segundos pelo uso do torniquete (Tabela 19). Diferenças significativas foram observadas somente após a aplicação do torniquete por 180 segundos ($p=0,007$), mesmo assim clinicamente irrelevantes (1,1%) como observado na Figura 17. Meus dados sugerem que o fosfato sérico rapidamente se equilibra após iniciado processo de hemoconcentração.

6.5.6 Fosfatase alcalina

O perfil de interferência da hemoconcentração produzida pela aplicação do torniquete sobre a atividade da fosfatase alcalina sérica (Tabela 20), segue o padrão observado para proteínas, anteriormente discutido, mostrando diferenças significativas

($p < 0,001$) em todos os tempos após 30 segundos. O efeito da estase venosa se torna clinicamente significativamente após 120 segundos, com incremento na atividade em 5,3% (Figura 18).

6.5.7 Potássio sérico

O efeito da hemoconcentração produzida pelo torniquete sobre a potassemia é notadamente peculiar (Tabela 21). Após 30 segundos de aplicação do torniquete, a concentração de potássio aumenta significativamente ($p < 0,001$). A diferença máxima observada encontra-se no tempo de 60 segundos de aplicação do torniquete (5,5%) que paradoxalmente diminui com o prolongamento deste tempo para valores inferiores a 3% (Figura 19).

O potássio é o cátion principal do meio intracelular apresentando neste ambiente uma concentração de cerca de 35 vezes maior que no soro (WALMSLEY e WHITE, 1994). Proponho que após a aplicação do torniquete, uma acidose no sítio de punção pode se desenvolver pelo aumento de $p\text{CO}_2$ e incremento do ácido láctico decorrente da glicólise anaeróbica, promovendo o efluxo de potássio do interior celular como elemento de carga positiva de troca com o próton (H^+) que é internalizado na célula para tamponamento (NARAYANAN, 1996). Uma vez liberado, este potássio rapidamente se equilibra no meio, o que justificaria rápida redução após uma liberação acentuada.

O efeito da aplicação do torniquete sobre a concentração de potássio e a sua rápida mobilidade do meio intracelular para o extracelular são elementos conhecidos e podem ser observados na Figura 6 da Introdução. Meu estudo ratifica estes achados e quantifica o efeito do tempo de aplicação do torniquete sobre este ensaio.

É importante notar que o tempo máximo recomendado para a aplicação do torniquete (60 segundos) promove o maior efeito na concentração de potássio sérico, sendo que com base neste estudo, os tempos de aplicação do torniquete recomendados para este analito deveriam ser de no máximo 30 segundos ou preferencialmente a coleta ser realizada sem este artifício.

6.5.8 Sódio e Magnésio

As concentrações séricas de sódio e magnésio são significativamente ($p < 0,001$) afetadas pela aplicação do torniquete principalmente após os 90 segundos (Tabelas 22 e 23).

O incremento máximo produzido na concentração de sódio é, no entanto, não significativo em termos clínicos (máximo de 0,7%), o que era esperado para um analito que rapidamente se equilibra após iniciado o processo de hemoconcentração (Figura 20).

O efeito da aplicação do torniquete sobre a concentração de magnésio é similar à observada com o sódio, com incremento máximo (2,6%) não significativo clinicamente após 180 segundos de aplicação do torniquete.

Como observação relevante, proponho que o sódio sérico seja utilizado em experimentos futuros envolvendo estudos do efeito da hemoconcentração como um controle negativo, por este ser pouco afetado por este processo.

Na análise comparativa entre os analitos estudados, que cobrem um espectro importante de moléculas do plasma quanto ao tamanho e difusibilidade, o efeito da hemoconcentração devido à aplicação do torniquete esta sumarizada na Tabela 24.

Concluimos que tempos de aplicação do torniquete iguais ou inferiores a 30 segundos não promovem alterações significativas nos analitos estudados. O tempo preconizado máximo para o uso do torniquete de 60 segundos permite alterações significativas na concentração dos analitos sem, no entanto, afetar a interpretação clínica destes ensaios, exceto para a determinação de potássio.

Este estudo também reforça a importância dos procedimentos que envolvem a flebotomia na composição da qualidade do resultado final. Variações significativas nas concentrações de proteínas e lípidos, mesmo após 90 segundos da aplicação do torniquete recomendam melhor controle desta etapa, em particular pela possibilidade que estas fontes de variações sejam aditivas a outras fontes de erros envolvidas nos processos laboratoriais.

7 CONCLUSÕES

- O tempo de aplicação do torniquete empregado pelos flebotomistas de laboratórios sob gestão pública e privada avaliados neste estudo ultrapassa o recomendado para este procedimento;
- O sistema de iluminação transdérmica utilizado permitiu eliminar o efeito da estase venosa nos analitos estudados;
- O equipamento Venoscópio IV se mostrou eficiente na identificação do vaso a ser puncionado e poderá ser utilizado em novos estudos experimentais para monitorar a interferência associada à hemoconcentração decorrente da aplicação do torniquete;
- Para os analitos estudados, aqueles de massa molecular elevada (proteínas) ou associados a estes, resultados clinicamente significativos (variações maiores que 5%) foram observadas após 90 segundos da aplicação do torniquete;
- A determinação de potássio apresentou variações significativas (cerca de 5%) dentro do tempo máximo preconizado para a aplicação do torniquete “60 segundos”;
- O tempo máximo de aplicação do torniquete recomendado por este estudo, por não afetar nenhuma das determinações, é de 30 segundos;
- Os laboratórios devem desenvolver programas perenes e específicos de verificação dos procedimentos associados à flebotomia para promover melhorias na gestão da qualidade na fase pré-analítica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLER R.D.; FELDER R. Laboratory automation systems and workcells. **Cap Today**, mar., 2008. Disponível em:<http://www.cap.org/apps/docs/cap_today/surveys/0307LASsvy.pdf>. Acesso em: mar. 2007.
2. ALLER R.D.; FELDER R. Laboratory automation systems and workcells. **Cap Today**, mar., 2007. Disponível em:<http://www.cap.org/apps/docs/cap_today/surveys/0307LASsvy.pdf>. Acesso em: mar. 2008.
3. BANFI, G.; DOLCI, A. Preanalytical phase of sport biochemistry and haematology. **J. Sports Med. Phys. Fitness**, v. 43, p.223-30, 2003.
4. BARTH, J. H.; ISMAIL, A. A. A. Wrong biochemistry results. **BMJ**, v. 323, p. 705-706, 2001.
5. BONINI, P.; PLEBANI, M., CERIOTTI, F.; RUBBOLI, F. Errors in laboratory medicine. **Clin. Chem.**, v.48, p. 691-698, 2002.
6. BOYD, J. Robotic laboratory automation. **Science**, n. 5554, p. 517-518, 2002.
7. BOWEN R.A.R.; CHAN, Y.; COHEN, J.; REHAK, N.J.; HORTIN, G.L.; CSAKO, G.; REMALEY, A.T. Effect of blood collection tubes on total triiodothyronine and others laboratory assays. **Clin. Chem.**, v.51, p .424-433, 2005.
8. BROKS, Z.C. **Quality control in six simple steps**. Washington: AACC Press, 1998. p.5-20
9. BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. **Tietz Fundamentos de Química Clínica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.198-218.
10. CARRARO, P.; MARIO, P. Errors in a start Laboratório: Types and Frequencies 10 years Later. **Clin. Chem.**, v.53, n.7, p.1338-1347, 2007.
11. CHIU, D.; WANG, H. H.; BLUMENTHAL, M. R. Creatine phosphokinase release as a measure of tourniquet effect on skeletal muscle. **Arch. Surg**, v.11, p. 71-74, 1976.

12. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. NCCLS – **Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture**; Approved Standard- H03A5. 5th ed., 2003.
13. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. NCCLS – H1-A5 – **Tubes and Additives for Venous Blood Specimen Collection**; Approved Standard. 5th ed., 2003.
14. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. NCCLS – H18-A3 – **Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens**. Approved Standard. 3rd ed., 2004.
15. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. NCCLS – H21-A4 – **Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays**. Approved Standard. 4th ed., 2003.
16. COOPER, W. G. **Lições básicas em laboratório de controle de qualidade**. California: Bio-Rad Laboratories Inc., 2000.
17. DEMERS, L.M.; HOLMAN, J.W.; MIFFLIN, T.E.; FELDER, R.A. Evaluation of an automated preanalytical robotic workstation at two academic health centers. **Clin. Chem.**, v.48, p.540-548, 2002.
18. ELIN, R.J.; WINTER, W. E. Laboratory and clinical aspects of b-type natriuretic peptides. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v.128, p.697-699, 2004.
19. ERNST, D.J.; ERNST, T. Phebotomy tools of the trade. **Home Healthc Nurse**, v.20, p.151-153, 2002.
20. FRASER, C.G. **Biological variation: from principles to practice**. Washington: AACC Press, 2001.
21. FRASER, C.G.; WILLIAMS, P. Short-term biological variation of plasma analytes in renal disease. **Clin. Chem.**, v.29, p.508 - 510, 1983.
22. GUDER, W.G.; NARAYANAN, S.; WISSER, H.; ZAWTA, B. Samples: from the Patient to the Laboratory – The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results. **GIT VERLAG GMBH**, Darmstadt, 1996.
23. GIRELLI, W.F.; SILVA, P.H.; FADEL-PICHETH, C.M.T.; PICHETH, G., Variabilidade biológica em parâmetros hematológicos. **RBAC**, v.36, p.23-27, 2004.

24. ISHIBASHI, M. Standardization of prostate-specific antigen (PSA) assays: can interchangeability of PSA measurements be improved? **Clin. Chem.**, v.52, p.1-2, 2006.
25. KATSOGRIDAKIS, Y.L.; SESHADRI, R., SULLIVAN, C., WALTZMAN, M.L., Veinlite transillumination in the pediatric emergency department. A therapeutic interventional trial. **Pediatr. Emerg. Care**, v.24, p.83-88, 2008.
26. KAPLAN, L. A.; PESCE, A. J. **Clinical Chemistry**. Theory, analysis, correlation. 3rd ed. St. Louis: Mosby, 1996. p. 72.
27. KUHNS L.R., MARTIN A.J., GILDERSLEEVE S. Intense transillumination for infant venipuncture. **Radiology**; v.116, p.734-735, 1975.
28. LAWRENCE, J. B. Preanalytical variables in the coagulation laboratory. **Lab. Med.**, v.1, p. 49-57, 2003.
29. LIMA-OLIVEIRA, G.S.; MANGUEIRA, C.L.P. Comparación entre Suero y Plasma de la Determinación Cuantitativa de Troponina I, CK-MB masa, CK total y CK-MB actividad: evaluación preliminar. In: CONGRESO LATINO AMERICANO DE PATOLOGIA CLÍNICA MEDICINA DE LABORATORIO, 17., 2004, CONGRESO BOLIVIANO DE PATOLOGIA / ML, 23., 2004 , La Paz, 2004.
30. LIPPI, G.; SALVAGNO, G.L.; BROCCO, G.; CESAR, G. Preanalytical variability in laboratory testing: influence blood drawing technique. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v.43, p. 319-325, 2005.
31. LIPPI, G.; SALVAGNO, G.L.; MONTAGNANA, M.; BROCCO, G.; CESAR, G. Influence of short-term venous stasis on clinical chemistry testing. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 43, n.8, p. 869-875, 2005b.
32. LIPPI, G.; GUIDI, G.C.; MATTIUZZI, C.; PLEBANI, M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v.44, p. 358-365, 2006.
33. LIPPI, G.; SALVAGNO, G.L.; MONTAGNANA, M.; FRANCHINI, M.; GUIDI, G.C. Phebotomy Issues and Quality Improvement in Results of Laboratory Testing. **Clin. Lab.**, v.52, 2006b.
34. LIPPI, G.; SALVAGNO, G.L.; MONTAGNANA, M.; FRANCHINI, M.; GUIDI, G.C. Venous stasis and routine hematologic testing. **Clin. Lab. Haem.**, v.28, p.:332-337, 2006c.

35. 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.**, v.52, p.1413-1443, 2006.
36. MILLER, M.; BACHORIK, P.S.; CLOEY, T.A. Normal variation of plasma lipoproteins: postural effects on plasma concentrations of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. **Clin. Lab.**, v.38, p.569-74, 1992.
37. MÜHLEN, C.A.V.; KAISER, G.R.R.F.; PICARELLI, M.M.: Dosagem laboratorial de enzimas musculares e diagnóstico equivocado de polimiosite juvenil: problemas na avaliação clínica e na fase pré-analítica. **Rev. Bras. Reumatol.**, v.44, p.224-26, 2004.
38. MUÑOZ, M.; ROMERO, A.; RAMOS, J. R.; CAMPO, A.; RAMIREZ, G. Identification of preanalytical mistakes in the stat se clinical laboratory. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v.43, p. 974-975, 2005.
39. NARAYANAN S. Pre and post analytical errors. **Ind. J. Clin. Biochem.**, v.11, p.7-11, 1996.
40. PECKLER, B.; HSU, C.K.: Tourniquet syndrome: a review of constricting band removal. **J. Emerg. Med.**, v.20, p.253-62, 2001.
41. PLEBANI, M.; CARRARO, P.; SERVIDIO, G. Hemolyzed specimens: a reason for rejection or a clinical challenge? **Clin. Chem.**, v.46, p.306-307, 2000.
42. PLEBANI, M.; CARRARO, P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. **Clin. Chem.**, v.48, p.1348-1351, 1997.
43. PICHETH, G.; SCARTEZINI, M.; ALCÂNTARA, V.M.; MONTEIRO, R.A.; MARIANO, C.; JAWORSKI, M.C.G.; KIKUTI, M.; PINTO, A.P.; GRANATO, E.S., Quanto podem variar duas determinações sucessivas de triglicérides? **Laes & Haes**, v. 6, n. 128, p. 174-190, 2001.
44. PICHETH, G.; YOKOO, A.A.; REGO, F.G.M.; COSTA, C. D.; MELO, S.F.; FADEL-PICHETH, C.MT. Controle de qualidade da glicemia: um estudo interlaboratorial. **RBAC**, v.33, p.171-174, 2001.
45. REMALEY, A.T.; BOWER, R.A.R.; CHAN, Y.; COHEN, J.; REHAK, N.N.; HORTIN, G.L.; CSAKO, G. Effect of blood collection tubes on total triiodothyronine and other laboratory assays. **Clin. Chem.**, v.51, p. 424-433, 2005.

46. REPORT OF THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS. **Diabetes Care**, v.29, S43-S48, 2006.
47. SMITH, S.; STANKOVIC, A.K. Elevated serum potassium values: the role of preanalytical variables. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.121, S105-S112, 2004.
48. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.77, supl. III, 2001.
49. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA MEDICINA LABORATORIAL. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica Medicina Laboratorial para Coleta de Sangue Venoso**. 2005.
50. STATLAND, B.E. Fundamental issues in clinical chemistry. **Am J Pathol.**, v. 95, p.243–272, 1979.
51. SUMITA, N.M.; LEME, A.C.; PASTERNAK, J.; MANGUEIRA, C.L.; CIRULLI, P.; PIMENTEL, V.A.; MARTIN, L.G. Difference between results obtained collecting venous blood from the back of the hand and the antecubital fossa for blood gas analysis. **Clin. Chem.**, v.52, supl. 6, A83-A84, 2006.
52. TIETZ, N.W. **Clinical guideline to laboratory tests**. 3rd ed. Philadelphia: Saunders, 1995, p.502-504.
53. THOMPSON, J.M. Blood collection and preparation: pre-analytical variation. In: JESPERSON, J., BERTINA, R.M., HAVERKATE, F. (eds). **ECAT assay procedure**. A manual of laboratory techniques. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1992. p.13-20,
54. YEO, K.T.J.; WU, A.H.B.; APPLE, F.S. Multicenter evaluation of the Roche NT-proBNP assay and comparison to the Biosite triage BNP assay. **Clin. Chim. Acta.**, v.338, p.107-115, 2003.
55. YOUNG, I.S. Interpretive comments on clinical biochemistry reports. **J. Clin. Pathol.**, v.58, p. 575, 2005.
56. YOUNG, D.S. Conveying the importance of the preanalytical phase. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v.41, p 884-887, 2003.
57. YOUNG, D.S. **Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests**. Washington, D.C.: AACC Press , 1993.

58. YOUNG, D.S.; BERNES, E.W.Jr. Preanalytical variables and biological variation. In: **Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics**. 4th ed. St. Louis: Saunders, 2006. p. 449 – 473.
59. WALLIN O.; SÖDERBERG, J.; GUELPEL B.V.; STENLUND, H.; GIRANKVIST, K.; BRULIN C. Preanalytical venous blood sampling practices demand improvement – A survey of test-request management, test-tube labeling and information search procedures. **Clin. Chim. Acta**, v.391, p.91-97, 2008.
60. WALMSLEY, R.N.; WHITE, G.H. **A guide to a diagnostic clinical chemistry**. London: Blackwell, 1994. p.1-10.
61. WESTGARD, J.O. **Multirule and "westgard rules"**: What are they? Disponível em: <<http://www.westgard.com/mltirule.htm>>. Acesso em: jan. 2007.