
TÓPICOS ABORDADOS

- | | |
|---|--|
| ✓ Controle de Substâncias Potencialmente Perigosas para a Saúde | ✓ Medidas de Segurança – Precauções Universais |
| ✓ Segurança em Laboratório | ✓ Equipamento Geral de Laboratório |
| ✓ Responsáveis pela Segurança | ✓ Metrologia |
| ✓ Manual de Segurança | ✓ Avaliação e Uso de Coagulômetros |
| | ✓ Reagentes |
-

Controle de Substâncias Potencialmente Perigosas à Saúde: a norma EN ISO 15189 especifica os requisitos de qualidade e competência específicos para laboratórios de análises de biologia médica. A ISO 15189 destina-se a ser utilizada em todas as disciplinas praticadas por laboratórios médicos. Sua aplicação é, portanto, fundamental para os laboratórios, pois seus serviços devem atender às necessidades tanto dos pacientes quanto dos médicos responsáveis pelos cuidados prestados aos seus pacientes. Esses serviços incluem requisitos de processamento, preparação e identificação de pacientes, coleta, transporte, armazenamento, pré-processamento e análise de amostras, seguidos pela validação dos resultados, sua interpretação, relato e aconselhamento, garantindo a segurança da equipe e o respeito à ética.

Segurança em Laboratório: laboratórios que manipulam produtos químicos e amostras biológicas são locais potencialmente perigosos. Nos últimos anos, tem havido uma crescente valorização da importância de práticas de trabalho seguro na área, por motivos de saúde e ambientais. Essa conscientização levou a uma maior ênfase em questões como documentação de segurança, treinamento de pessoal e avaliação de riscos. Os empregadores têm a responsabilidade de fornecer as roupas e equipamentos de proteção necessários e são obrigados a oferecer treinamento em práticas de trabalho seguro. A implementação dessas práticas de trabalho seguro deve reduzir significativamente a probabilidade de lesões graves para você, seus colegas e membros do público.

Responsáveis pela Segurança: é importante instituir um ou mais responsáveis pela segurança para cada departamento. Essas pessoas assumirão as responsabilidades de introduzir e manter os procedimentos de segurança. No entanto, a segurança é responsabilidade de toda a equipe do laboratório.

Manual de Segurança: deve haver um manual de segurança abrangente que aborde todos os aspectos das práticas de trabalho seguro para todo o departamento. Todos os funcionários devem ler o manual e assinar uma declaração indicando que o compreenderam. Cópias devem ser mantidas com os responsáveis pela segurança e também disponibilizadas em locais de fácil acesso a todos os funcionários, seja em formato impresso ou, de preferência, eletrônico, para garantir que a versão mais recente esteja disponível.

Medidas de Segurança – Precauções Universais: o sistema de precauções universais exige que qualquer perigo de infecção proveniente de qualquer origem seja evitado ou minimizado por meio de boas práticas de trabalho. Deve-se considerar que todas as amostras de sangue, hemoderivados (incluindo kits e reagentes à base de plasma) e outros materiais do corpo humano apresentam possível perigo de infecção. As medidas de proteção mais completas possíveis devem ser sempre adotadas ao trabalhar com qualquer material. Nenhuma outra classificação de risco deve ser feita. Todos os materiais e fluidos corporais diferentes de sangue, coletados ou trazidos à unidade para testes ou qualquer outra finalidade, devem ser manuseados com o mesmo cuidado dispensado ao sangue.

O laboratório: o laboratório deve estar sempre limpo e organizado. A documentação deve ser mantida separada das áreas de testes do laboratório. Evite usar o laboratório para armazenar itens a granel. Certifique-se de que todos participem da manutenção da ordem no laboratório.

Roupas de proteção: todos que entrarem no laboratório, incluindo visitantes, devem usar um jaleco. Caso seja contaminado, o jaleco deve ser trocado imediatamente.

Luvas descartáveis: embora muitas pessoas não gostem de usar luvas, recomenda-se o uso de luvas descartáveis de látex ou poliacrilamida, visto que todas as amostras manuseadas no laboratório são potencialmente perigosas. Luvas devem ser sempre usadas ao manusear materiais tóxicos. Luvas e jalecos obviamente não protegem contra acidentes com agulhas, mas evitam, por exemplo, cortes ou abrasões na pele que entra em contato com soro ou plasma positivo para HIV. É obrigatório sempre substituir as luvas imediatamente caso estejam rasgadas ou sejam perfuradas.

Lavagem dos olhos: lave os olhos imediatamente com bastante água fria corrente caso tenha ocorrido contato com algum material possivelmente infeccioso, pois muitas infecções podem ser facilmente adquiridas pelo contato com as mucosas dos olhos.

Perfurocortantes: perfurocortantes, como agulhas e cacos de vidro, representam grande perigo. Use uma caixa para objetos perfurocortantes capaz de conter esses objetos sem ser perfurada. Já houve casos de trabalhadores infectados em decorrência de ferimentos com agulhas.

Aerossóis: evite todas as práticas em laboratório aberto que possam causar respingos ou liberação de gotículas ou poeira no ar. Operações que gerem aerossóis devem ser sempre realizadas em capela de exaustão adequada, com uso de óculos de segurança. Todos os derramamentos devem ser limpos imediatamente, utilizando água sanitária ou um agente neutralizante, conforme necessário.

Substâncias tóxicas e inflamáveis: materiais tóxicos ou inflamáveis devem sempre ser contidos em capela de exaustão ou caixa segura adequada.

Equipamento elétrico: tenha cuidado especial com qualquer equipamento que utilize líquidos, como tanques de eletroforese e banhos-maria. Sempre deixe a instalação, a manutenção e os reparos a cargo de pessoal qualificado.

Pertences pessoais e comportamento: nunca leve itens pessoais, como canetas, bolsas e pentes, para o laboratório. Evite o contato das mãos com o rosto ou mucosas (olhos, nariz e boca) enquanto estiver no laboratório, mas, se for realmente necessário, lave sempre as mãos antes. Lave sempre bem as mãos antes de sair do laboratório. Nunca coloque uma pipeta na boca. Alimentos, cigarros e cosméticos nunca devem ser trazidos para o laboratório. Isso significa que comer, beber e fumar devem ser evitados no laboratório.

Acidentes: Todos os acidentes devem ser relatados imediatamente e registrados no livro de acidentes mantido pelo Responsável pela Segurança da unidade. Isso é particularmente importante em relação a ferimentos por agulhas. Nessas situações, siga os sistemas de registro e relato de hospitais locais, juntamente com quaisquer ações localmente recomendadas ou obrigatórias.

Controle de Substâncias Potencialmente Perigosas à Saúde: os laboratórios devem cumprir a regulamentação local, que geralmente publica guias úteis na identificação de riscos e perigos, como o Controle de Substâncias Perigosas à Saúde (COSHH) em laboratórios do Reino Unido.

Perigo e risco: o perigo apresentado por uma substância é o seu potencial de causar danos. O risco dessa substância é a probabilidade de causar danos a alguém nas condições reais de uso.

Identificação de perigos: a identificação de perigos é um pré-requisito essencial da avaliação de riscos. O tempo gasto na identificação dos perigos varia de acordo com a substância.

Avaliação de riscos: considere os seguintes fatos:

- Perigos
- Condições de uso
- Quantidades a serem utilizadas
- Prováveis vias ou locais de exposição (inalação, ingestão, pele ou olhos)

O resultado da avaliação de riscos determinará:

- Condições de armazenamento
- Procedimentos de manuseio
- Procedimentos de descarte
- Necessidade de monitoramento e vigilância sanitária
- Procedimentos de emergência

A avaliação de riscos deve ser revisada anualmente e atualizada, se necessário. Um exemplo de como registrar informações para avaliações de riscos, por meio do procedimento COSHH utilizado em laboratórios do Reino Unido, é apresentado na Tabela 1. O objetivo desses formulários é identificar os perigos e as medidas de controle associados aos equipamentos utilizados em um procedimento específico. Somente pessoal documentado como competente deve realizar qualquer procedimento, e deve realizá-lo somente após revisar a documentação de saúde e segurança relacionada ao teste específico.

Tabela 1. Controle de substâncias potencialmente perigosas à saúde (COSHH) para ensaios de fator de coagulação (F) baseado no TTPA e tempo de protrombina

Nº ref. COSHH ensaios 1		Ensaios de coagulação de um estágio de lab. ref. para FII, FV, FVIII, FVIII, FIX, FX, FXI e FXII
Título do procedimento/experimento:		
Substância	Quantidade aproximada	Perigo identificado
Tampão glioxalina (imidazol), contém (vide**)	<5 mL	Nocivo se ingerido.
**Imidazol	3,4 g/L	Corrosivo: provoca queimaduras. Nocivo se inalado, ingerido ou absorvido pela pele. Irritante para os olhos.
**Cloreto de sódio	5,85 g/L	Irritante para os olhos e pulmões. Evite contato com a pele.
Plasma deficiente em fator	1 mL	Risco de infecção.
Tromboplastina	2 mL	Risco baixo.
Reagente de TTPA	2 mL	Risco baixo.
Cloreto de cálcio 0,025 M	5 mL	Risco baixo.
Tampão de Owren	<500 mL	Contém barbitona. Nocivo se ingerido. Pode causar sensibilização por contato com a pele ou inalação.
Solução de lavagem 1 do analisador de coagulação	<50 mL	Provoca queimaduras: nocivo aos olhos, pele, etc. Não misture com outros desinfetantes. Corrosivo. O contato com materiais combustíveis pode causar incêndio. O contato com ácido libera gases tóxicos. Reage violentamente com sais de amônio; solvente orgânico - risco de explosão.
Solução de lavagem 2 do analisador de coagulação	<50 mL	Contém 0,16% de ácido clorídrico e detergente. Irritante: pode causar danos aos olhos e à pele.
Plasma padrão/de controle/paciente	<1000 µL	Risco de infecção.

Equipamento Geral de Laboratório: qualquer laboratório envolvido no diagnóstico e no monitoramento do tratamento de distúrbios hemorrágicos que utilize algumas ou todas as técnicas descritas neste manual exigirá um mínimo de equipamento básico.

Equipamento geral: os requisitos de equipamentos básicos são:

- 1) Refrigerador a 4°C para armazenamento de reagentes. Os reagentes devem normalmente ser mantidos entre 2 e 8°C, salvo indicação em contrário do fabricante. Uma unidade doméstica de boa qualidade pode ser adequada.
- 2) Freezer capaz de manter pelo menos -20°C (preferivelmente -35°C). Uma temperatura mais baixa, como -70°C, é útil para armazenamento mais prolongado, pois os fatores de coagulação permanecem estáveis nessa temperatura por pelo menos 6 meses. Freezers com ciclo de descongelamento automático são completamente inadequados.
- 3) Banhos-maria regulados capazes de manter temperaturas de $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. A temperatura normalmente é melhor mantida em banho-maria do que em blocos aquecedores secos, que podem ou não ser adequados, dependendo da unidade.
- 4) Medidor de pH.
- 5) Uma fonte de luz.
- 6) Cronômetro(s).
- 7) Pipetas automáticas calibradas, capazes de fornecer volumes exatos e precisos de amostra e reagente na faixa de 0 µL–200 µL e até 1000 µL. É importante verificar a exatidão dessas pipetas regularmente.
- 8) Pipeta calibrada para dispensação de volumes de líquido até 5 mL.
- 9) Centrífuga capaz de gerar pelo menos 1700 g, preferivelmente de 2200 a 2500 g. Para a maioria das análises de coagulação, centrifugação em temperatura ambiente (20–25°C) é aceitável, embora centrifugação a 4°C seja recomendada em algumas técnicas.
- 10) Balança analítica calibrada capaz de medir com exatidão gramas com até três casas decimais.

Alguns procedimentos requerem equipamentos adicionais, incluindo:

- 11) Analisador de coagulação (coagulômetro).
- 12) Leitor de microplacas para ensaios imunoenzimáticos (ELISAs).
- 13) Agregômetro de plaquetas. Equipamento especificado em fichas de métodos específicos.

Ar condicionado em cada ambiente é uma grande vantagem em países com altas temperaturas.

Deve haver um suprimento adequado de consumíveis. A reutilização de tubos de ensaio e ponteiros de pipeta após lavagem deve ser evitada, pois resíduos podem afetar de maneira adversa os resultados, causando desperdício de reagentes e tempo. O mesmo se aplica aos tubos de coleta, que são projetados para uso único e não devem ser reutilizados mesmo após lavagem extensa.

Metrologia: para auxiliar na gestão da qualidade, as calibrações de balança e volume de pipetas devem ser verificadas regularmente, por exemplo, a cada 3–6 meses. Aparelhos significativamente descalibrados devem ser imediatamente retirados de uso até que a recalibração seja realizada. Todas as pipetas devem ter um identificador exclusivo.

Método de verificação da calibração de pipetas: as pipetas podem ser para um único volume, para dois ou três volumes, ou ter uma faixa contínua de volumes.

- Pipetas com uma ou duas configurações fixas são verificadas em cada configuração.
- Pipetas com três configurações fixas são verificadas nas configurações mínima e máxima.
- Pipetas com configurações de faixa contínua de volume: verifique a configuração máxima, bem como um volume em torno de 25% da configuração máxima. Ou seja:
 - Pipeta de 10 mL – 10 mL e 2,5 mL
 - Pipeta de 5 mL – 5 mL e 1,25 mL
 - Pipeta de 1 mL – 1 mL (1000 µL) e 0,25 mL (250 µL)

- Pipeta de 0,2 mL – 0,2 mL (200 µL) e 0,05 mL (50 µL)
- Pipeta de 0,1 mL – 0,1 mL (100 µL) e 0,025 mL (25 µL)
- Pipeta de 50 µL – 50 µL e 15 µL

Verifique a calibração pesando cinco volumes replicados de água destilada (em temperatura ambiente) em uma balança. Cada peso é registrado em gramas (com três casas decimais). Para fins práticos, 1,000 mL de água destilada pesa 1,000 g.

Os resultados e quaisquer medidas adotadas devem ser registrados. As pipetas devem, preferivelmente, ter exatidão significativa em menos de 10% (veja os exemplos abaixo). Quando uma pipeta for inexata porque o volume médio pipetado difere em mais de 10% do volume indicado, ela deve ser imediatamente retirada de uso e não utilizada até ser recalibrada de acordo com as instruções do fabricante.

Observação: se uma pipeta apresentar imprecisão além dos seguintes limites (peso médio), ela deverá ser retirada de uso imediatamente.

Pipeta de 10 mL

10 mL: 9,000 – 11,000 g
2,5 mL: 2,250 – 2,750 g

Pipeta de 5 mL

5 mL: 4,500 – 5,500 g
1,25 mL: 1,125 – 1,375 g

Pipeta de 1 mL

1 mL: 0,900 – 1,100 g
0,25 mL: 0,225 – 0,275 g

Pipeta de 0,2 mL

0,2 mL: 0,180 – 0,220 g
0,05 mL: 0,045 – 0,055 g

Pipeta de 0,1 mL

0,1 mL: 0,090 – 0,110 g
0,25 mL: 0,225 – 0,0275 g

Pipeta de 50 µL

50 µL: 0,045 – 0,055 g
15 µL: 0,013 – 0,165 g

Para obter informações adicionais, consulte o documento ISO 8655-2-2002, disponível em diferentes idiomas.

Método de verificação de balanças: para garantir sua exatidão, pesos calibrados são pesados em intervalos de seis meses e os valores são registrados.

- 1) Zere a balança.
- 2) Pese três pesos calibrados, um de cada vez. Registre os pesos com três casas decimais (por exemplo, 1,003 g).
- 3) Se algum peso estiver fora dos limites estabelecidos (em >2%), retire-a de uso até que o problema seja corrigido.

Método de verificação da temperatura de compartimentos refrigerados: a temperatura interna dos refrigeradores deve ser mantida a +4°C (geralmente na faixa de +2°C a +7°C) usando uma sonda de temperatura, e de maneira ideal deve ser registrada constantemente, seja por meio de um disco impresso local ou eletronicamente. O mesmo se aplica aos freezers, que devem ser mantidos em temperaturas de -20°C, -35°C ou até abaixo de -70°C.

Avaliação e Uso de Coagulômetros: a automação em laboratórios de coagulação é hoje amplamente utilizada na maior parte do mundo. Ela contribuiu para melhorias na padronização e na facilitação de testes que exigem treinamento específico e condições especiais de trabalho, permitindo que os laboratórios aprimorem sua eficiência e repertório. A automação em hemostasia é relativamente recente. Métodos manuais baseados na detecção visual do coágulo de fibrina e no uso de incubadoras a 37°C eram, no passado, as únicas técnicas para estudos de coagulação. Então, na década de 1970, surgiram novos equipamentos semiautomáticos baseados em princípios fotométricos ou mecânicos para detectar coágulos de fibrina. Mais recentemente, instrumentos totalmente automatizados se tornaram comuns em laboratórios modernos. Novos equipamentos conectados a sistemas de informação laboratorial, geralmente incluindo sistemas específicos de processamento de dados, podem realizar testes de coagulação, cromogênicos e imunológicos.

Duas metodologias principais baseadas em sistemas de detecção mecânicos e ópticos estão disponíveis atualmente. Os sistemas mecânicos permitem apenas a realização de ensaios de coagulação, enquanto os sistemas ópticos permitem a realização de ensaios cronométricos, cromogênicos e imunológicos baseados em princípios foto-ópticos, nefelométricos, cromogênicos e imunológicos. Além disso, analisadores baseados em fluorescência e quimioluminescência estão sendo disponibilizados no mercado, permitindo a realização de ensaios específicos com uma ampla gama de medições.

Princípio mecânico: os métodos eletromagnéticos baseiam-se na detecção de um aumento na viscosidade do plasma durante a formação de fibrina. Duas variações desse princípio são aplicadas atualmente aos equipamentos de laboratório.

A primeira utiliza um campo eletromagnético aplicado a cubetas de teste que detecta movimento dentro de uma esfera de aço inoxidável colocada na amostra de plasma. A esfera de aço segue um movimento pendular, oscilando de um lado para o outro em uma solução reagente de plasma com movimento constante. À medida que a fibrina começa a se formar, a viscosidade aumenta e o movimento da esfera é retardado. Quando o movimento de oscilação da esfera atinge um nível predeterminado, o cronômetro para, indicando o tempo de coagulação do plasma.

Um segundo método de detecção mecânico também utiliza uma esfera de aço inoxidável, dessa vez localizada em uma única ranhura. Um sensor magnético detecta a posição da esfera e, à medida que gira, ela mantém sua inclinação enquanto a amostra líquida permanece fluida. Quando a fibrina é formada, o coágulo captura a esfera, movendo-a de sua posição original. À medida que ela se move para fora do alcance do sensor, o circuito é interrompido e o cronômetro para.

Princípios ópticos ou espectrofotométricos:

Princípio foto-óptico: os sistemas ópticos baseiam-se na noção de que a formação de coágulo induz alterações na densidade óptica do plasma. À medida que o coágulo se forma, ocorrem alterações nas características ópticas em relação à leitura inicial do plasma/dos reagentes. Essas alterações são monitoradas e utilizadas para determinar o tempo necessário para que um determinado grau de alteração ocorra.

Princípio nefelométrico: o princípio nefelométrico é utilizado por alguns sistemas. Em ensaios de coagulação, uma fonte de luz laser monocromática é transmitida, por exemplo, por fibra óptica. É possível fazer as leituras de dispersão de luz por um sensor que pode ser instalado a 90 ou 180 graus da trajetória da luz, dependendo do sistema, que então mede a luz espalhada em um ângulo ou registra a alteração na transmissão de luz. Quando a luz atinge complexos insolúveis, como fibras de fibrina, ela se dispersa em ângulos de espalhamento frontal (180 graus) e ângulos de espalhamento lateral (90 graus). O cronômetro para quando a quantidade de luz espalhada ou de luz transmitida atinge um nível predeterminado específico. A diferença entre a luz espalhada ou transmitida antes e depois da formação do coágulo é normalmente proporcional à quantidade de fibrina formada.

Princípio cromogênico: baseia-se no uso de uma substância geradora de cor específica, conhecida como cromóforo, sendo a para-nitroanilina (pNA) a mais comum. Sua absorbância máxima é de 405 nm. O princípio do teste cromogênico reside na aderência de pNA a substratos sintéticos. A pNA é ligada a uma série de aminoácidos que imitam a sequência-alvo do fator de coagulação ativado que queremos determinar. A proteína de coagulação cliva o substrato cromogênico em um sítio específico entre uma sequência de aminoácidos definida e libera a pNA. A intensidade da cor amarela é proporcional à quantidade de pNA liberada. Isso é medido por fotodetecção no comprimento de onda de 405 nm. À medida que mais pNA é clivada e liberada, a capacidade de absorbância da amostra aumenta, o que ocasiona uma maior alteração na densidade óptica da solução. Os primeiros equipamentos de coagulação forneciam apenas um único parâmetro de definição, como um parâmetro mecânico ou foto-óptico. As ferramentas foto-ópticas foram inicialmente projetadas para leitura em um único comprimento de onda (por exemplo, 500 nm ou 600 nm), que só podia ser usado para a detecção da formação de coágulo. Mais recentemente, alguns coagulômetros podem ler em dois ou mais comprimentos de onda, frequentemente incluindo 405 nm, aumentando assim a capacidade para reações mais recentes (métodos de substrato cromogênico). Na década de 1990, vários fabricantes incluíram com sucesso diversos métodos

de detecção, que agora oferecem a um único laboratório a possibilidade de usar o mesmo equipamento para diferentes metodologias.

Princípio imunológico: micropartículas de látex revestidas com um anticorpo específico são geralmente utilizadas contra o analito (antígeno) a ser medido. Um feixe de luz monocromática atravessa a suspensão de micropartículas de látex. Quando o comprimento de onda é maior que o diâmetro das partículas em suspensão, as partículas absorvem uma pequena quantidade de luz. No entanto, quando as micropartículas de látex revestidas com o antígeno específico entram em contato com o antígeno presente na solução, elas aderem ao anticorpo, formando ligações entre as partículas, o que produz aglutinação. Quando o diâmetro das partículas se aproxima do comprimento de onda do feixe de luz monocromática, uma maior quantidade de luz é absorvida. Esse aumento na absorbância da luz é proporcional à aglutinação, que, por sua vez, é proporcional à quantidade de antígeno presente na amostra. Esse tipo de tecnologia está disponível em analisadores de coagulação mais sofisticados, introduzidos no mercado na década de 1990. Ensaios imunológicos padrão, geralmente demorados, podem ser realizados em minutos com o uso de qualquer uma dessas ferramentas automatizadas.

Tabela 2. Vantagens e desvantagens dos métodos de detecção na definição de parâmetros

Método	Vantagens	Desvantagens
Mecânico	Nenhuma interferência causada por características físicas, como lipemia ou icterícia Pode utilizar pequenos volumes de amostra	Impossível observar gráficos de formação de coágulos Pode apresentar problemas de detecção de ponto final em algumas amostras com baixo nível de fibrinogênio
Foto-óptico	Possibilidade de gráficos sobre formação de coágulos Verificações ópticas de hemólise/lipemia/icterícia em alguns sistemas ópticos Pode utilizar pequenos volumes de amostra	Interferência causada por lipemia, hemólise, hiperbilirrubinemia ou aumento de proteínas em alguns sistemas Alguns sistemas podem apresentar dificuldades na detecção de coágulos ao utilizar reagentes completamente transparentes Períodos de coagulação muito curtos podem passar despercebidos devido ao atraso antes do início do monitoramento
Nefelométrico	Pode medir reações antígeno-anticorpo em proteínas presentes em quantidades muito pequenas	Limita o número de testes disponíveis Custo dos reagentes
Cromogênico	Ensaios totalmente específicos podem ser mais fáceis Parâmetros adicionais não adequados para medição por detecção de coágulos podem ser possíveis Aumenta o repertório de testes possíveis Possíveis melhorias na precisão em comparação com análises baseadas em coágulos	Limitado pelo comprimento de onda do instrumento Requer grandes volumes de teste para uma relação custo-benefício positiva Custo dos instrumentos e reagentes
Imunológico	Pode automatizar métodos manuais e demorados Aumenta o número de testes possíveis	Número limitado de testes disponíveis Custo dos instrumentos Custo dos reagentes

Vantagens da automação no laboratório de coagulação:

- 1) Melhora a capacidade e a flexibilidade do tempo profissional despendido (Rodak, 1995).
- 2) Melhora o desempenho dos testes. No passado, os testes manuais de coagulação eram inexatos, com coeficientes de variação acima de 20%; os equipamentos semiautomáticos proporcionavam maior exatidão nos testes de coagulação. Entretanto, com o envio manual de amostras e reagentes, os testes tinham que ser realizados em duplicata. Com equipamentos totalmente automatizados, a exatidão melhorou, atingindo coeficientes de variação

abaixo de 5% e até mesmo 1% para alguns testes. Isso fez com que os autores introduzissem a noção de testes únicos e a possibilidade de reduzir os custos de reagentes e cubetas pela metade.

- 3) Reduz o custo com amostras e reagentes, permitindo o uso de volumes menores de plasma e reagentes (pelo menos a metade).
- 4) Facilita os sistemas de armazenamento e recuperação de dados por meio de programas de computador.
- 5) Permite a reprodução automática dos resultados em caso de erros na primeira execução.
- 6) Oferece a possibilidade de realizar diferentes testes usando uma única amostra.
- 7) Permite a coleta de amostras de um tubo fechado (denominada “cap-piercing”), o que melhora a segurança e a eficiência nos testes de coagulação. Isso reduz, em grande parte, a possibilidade de exposição do operador a borrifos ou derramamentos de amostras de pacientes ou erros de rotulagem. Curiosamente, um fabricante ofereceu um sistema de triagem patenteado que separa automaticamente o plasma dos eritrócitos antes dos testes, sem centrifugação prévia.
- 8) Oferece a capacidade de diluir amostras, calibradores e controles. O equipamento pode ser programado para diluições adicionais caso os resultados iniciais escapem da linearidade do método. Também pode realizar outros testes automaticamente, sem a intervenção do operador, se houver indicação clínica ou em função dos resultados da execução inicial.
- 9) A maioria dos analisadores inclui sistemas de alarme que avisam o operador sobre leituras acima dos limites preestabelecidos, o que pode identificar problemas no equipamento (por exemplo, pequena quantidade de reagente, falha de temperatura, volume de amostra muito pequeno e erros de controle de qualidade), bem como erros pré-analíticos (tubos subpreenchidos, hemólise, icterícia, lipemia e presença de coágulos).

Os diferentes tipos metodológicos disponíveis possuem vantagens e desvantagens que devem ser conhecidas e compreendidas para garantir a precisão e a validade dos resultados dos testes. É importante considerar que os laboratórios são responsáveis pela confiabilidade dos resultados. A principal preocupação de um laboratório é selecionar o equipamento de coagulação que gerará resultados adequados, apesar das restrições orçamentárias. Esses instrumentos exigem manutenção técnica regular, conhecimento permanente e controle do sistema, uma vez que qualquer erro ou falha pode influenciar decisivamente uma série de resultados. Sistemas de controle que garantam a confiança analítica são, portanto, obrigatórios.

Muitos laboratórios podem ter a sorte de poder avaliar os equipamentos antes da compra. Caso isso não seja possível, é muito importante obter informações e aconselhamento adequados de um laboratório de referência, além da revisão da literatura.

Ao avaliar novos equipamentos antes da compra, compare primeiro os analisadores de acordo com critérios como:

- custos de equipamento e manutenção
- período de inatividade e confiabilidade
- tempo de resposta ao reparo
- facilidade de uso
- disponibilidade de manutenção adequada dentro de prazo apropriado
- processo de validação e produtividade
- custo de elementos descartáveis
- flexibilidade no uso de reagentes de outros fabricantes
- possibilidade de adicionar novos protocolos de teste
- capacidade e custo de conexão com o sistema de informações do laboratório
- cursos de treinamento e suporte de treinamento contínuo

A sensibilidade de diferentes tipos de equipamentos a diversos parâmetros varia dependendo de como as máquinas são calibradas e de como os pontos finais são detectados. Os laboratórios têm necessidades diferentes, e é aconselhável classificar as prioridades. Por exemplo, consulte a Tabela 3.

Tabela 3. Características de equipamentos especializados (adaptado de Rodak, 1995)

Características	Descrição
Acesso randômico	Com a amostra de pacientes, vários testes diferentes são possíveis em qualquer ordem e ao mesmo tempo.
Tubo primário de amostra	A amostra de plasma é coletada diretamente por aspiração em um tubo de coleta aberto colocado no analisador.
Rolha penetrante e tubo de amostra fechado	O analisador aspira a amostra de plasma dentro do tubo de coleta com a rolha de borracha no lugar.
Código de barras	Permite a identificação de reagentes, amostras de pacientes ou ambos por meio de um código de barras. Isso reduz a entrada manual de dados.
Interfase bidirecional	O analisador consulta um computador centralizado para determinar o número de testes solicitados. O operador não precisa programar manualmente as informações no equipamento.
Indicador de amostra	Avisa o operador sobre problemas com a integridade da amostra.
Sensor de nível de líquido	Avisa o operador sobre volume insuficiente de amostra ou reagente para teste adequado, ou se o equipamento não aspirou o suficiente da amostra para realizar o teste solicitado.
Programas integrados de controle de qualidade	O programa de computador do instrumento armazena e organiza dados de controle de qualidade. Pode incluir a aplicação completa das regras de Westgard para indicar resultados fora dos limites.
Capacidades de STAT	Permite que o operador cancele a sequência de verificação do teste para colocar uma nova amostra de STAT na ilha de verificação.
Capacidade de refrigeração de amostras integradas	Preserva a integridade de amostras, reagentes ou ambos durante o processo de verificação.
Capacidade de armazenamento de amostras integradas	Indica a quantidade de amostra do paciente que pode ser carregada no analisador a qualquer momento.
Capacidade de teste de reflexo	Permite programar o equipamento para repetir ou adicionar testes de acordo com parâmetros específicos definidos pelo operador.
Armazenamento de dados de pacientes	Capacidade do analisador de armazenar resultados de testes que podem ser recuperados a qualquer momento. Pode armazenar curvas de formação de coágulos.
Monitoramento do volume de reagente	Avisa o operador sobre reagente insuficiente para testes programados.
Processamento	Número de testes que podem ser processados dentro de um determinado período (geralmente classificado como número de testes por hora).
Curva de formação de coágulos	Permite que o operador visualize a formação de coágulos dentro da cubeta. Ajuda a detectar certas condições anormais ou estados mórbidos, ou a localização e solução de falhas em resultados de testes divergentes.
Verificações pré-analíticas	Deteção de tubos subpreenchidos, hemólise, icterícia, lipemia, coágulo.

A tecnologia está em ascensão e as crescentes demandas diárias geram a necessidade de instrumentos dessa natureza no laboratório. Eles representarão um grande avanço na área laboratorial em razão da possibilidade de realizar testes de forma confiável, exata e precisa, e fornecer resultados mais rapidamente (menor tempo de resposta) e com melhor controle. As vantagens da automação são inúmeras. A tecnologia avança continuamente para acompanhar os novos desenvolvimentos na área e reduzir os tempos de resposta, permitindo que os testes sejam confiáveis, exatos e precisos e mantendo a qualidade.

Reagentes: além de reagentes específicos para ensaios específicos, que serão detalhados nos capítulos correspondentes, alguns reagentes são amplamente utilizados no laboratório de hemostasia (por exemplo, solução de cloreto de cálcio e diversos tampões). Eles podem ser adquiridos de fabricantes de reagentes ou preparados localmente a partir de reagentes a granel ou soluções concentradas.

Solução de cloreto de cálcio 25 mM: por exemplo, se for adquirida uma solução molar, para obter uma solução 25 mM, dilua 25 mL de solução 1 M para 1 litro em balão volumétrico com água destilada.

Tampões:

- Tampão barbitúrico de Owren pH 7,35

Pese 5,875 g de dietilbarbitúrico de sódio (barbitona sódica) e 7,335 g de cloreto de sódio.

Coloque em um balão volumétrico e dissolva em aproximadamente 780 mL de água destilada.

Adicione 215 mL de ácido clorídrico 0,1 M.

Ajuste o volume até 1 litro com água destilada.

Verifique o pH e ajuste para pH 7,35, se necessário.

- Solução salina tamponada de Owren

200 mL de tampão barbitúrico de Owren (vide acima).

Adicione 800 mL de solução salina normal (cloreto de sódio a 0,9%).

- Tampão imidazol (glioxalina)

Pese 2,72 g de imidazol (glioxalina) e 4,68 g de cloreto de sódio.

Coloque em um balão volumétrico e dissolva em aproximadamente 650 mL de água destilada.

Adicione 148,8 mL de HCl 0,1 M e ajuste o pH para 7,3.

Ajuste o volume até 1 litro com água destilada, se necessário.

Reagentes para testes de triagem de coagulação: nas fases iniciais de investigação e diagnóstico de distúrbios hemorrágicos, a seleção e a aplicação de reagentes adequados para testes de triagem, particularmente para os testes de tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), são de grande importância. Muitos reagentes diferentes estão disponíveis em todo o mundo. Quando houver uma grande variedade de opções, a seleção deve levar em consideração a variação da sensibilidade. Na triagem de um distúrbio hemorrágico por TP e TTPA, as seguintes fontes de informação em relação ao provável desempenho de um determinado reagente podem ser consideradas:

- Dados comparativos em relação a outros reagentes provenientes de programas de avaliação externa de qualidade (EQA), como o programa de EQA internacional
- Dados publicados
- Testes locais de plasma de pacientes com defeitos conhecidos
- Fichas técnicas dos fabricantes

A produção local de reagentes de TP e TTPA pode ser financeiramente atrativa, mas pode causar dificuldades de padronização e, portanto, deve ser evitada. Deve-se observar também que alguns fabricantes oferecem reagentes diferentes. Além disso, a composição de reagentes com o mesmo nome pode ser alterada periodicamente. Isso significa que não é possível fornecer recomendações para o uso de uma determinada fonte de material.

Referências

Graves S, Holman B, Rossetti M, Estey C, Felder R. Robotic automation of coagulation analysis. *Clinica Chimica Acta* 1998; 278: 269-279.

Kitchen S, Olson JD, Preston FE (eds). Quality in laboratory hemostasis and thrombosis 2nd ed. Oxford, UK: Wiley Blackwell, 2013.

Lippi G, Plebani M, Favaloro EJ. Technological advances in the hemostasis laboratory. *Semin Thromb Hemost* 2014; 40: 178-185.

Qari MH. High throughput coagulation analyzers review. *Comb Chem High Throughput Screen* 2005; 8: 353-360.

Rodak BF (ed). Diagnostic hematology. Philadelphia: WB Saunders, 1995.

Sasaki M, Kageoka T, Ogura K, Kataoka H, Ueta T, Sugihara S. Total laboratory automation in Japan: Past, present and the future. *Clinica Chimica Acta* 1998; 278: 217-227.

Walenga JM, Fareed J. Automation and quality control in the coagulation laboratory. *Clin Lab Med* 1994; 14: 709-728.

Woodhams B, Girardot O, Blanco MJ, Colesse G, Gourmelin Y. Stability of coagulation proteins in frozen plasma. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; 12: 229-236.