

Dissertação de Mestrado Profissional

**GUARDA DE MATERIAL BIOLÓGICO EM BIORREPOSITÓRIOS:
IMPLANTAÇÃO DE PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÕES
NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO / HU-UFMA.**

MARIA CLÁUDIA SANTOS GÜTTLER

**HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO PROFISSIONAL EM
PESQUISA CLÍNICA**

**GUARDA DE MATERIAL BIOLÓGICO EM BIORREPOSITÓRIOS: IMPLANTAÇÃO
DE PROTOCOLO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO MARANHÃO / HU-UFMA.**

Autor: Maria Cláudia Santos Güttler

Orientador: Profa. Dra. Leila Beltrami Moreira

Co-Orientador: Profa. Dra. Rita da Graça Carvalhal Frazão Correa

*Dissertação submetida como requisito parcial
para a obtenção do grau de Mestre ao Programa
de Pós-Graduação Mestrado Profissional em
Pesquisa Clínica, do Hospital de Clínicas de
Porto Alegre.*

CIP - Catalogação na Publicação

GÜTTLER, MARIA CLÁUDIA SANTOS

GUARDA DE MATERIAL BIOLÓGICO EM BIORREPOSITÓRIOS:
IMPLANTAÇÃO DE PROTOCOLO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO / HU-UFMA. / MARIA
CLÁUDIA SANTOS GÜTTLER. -- 2018.

214 f.

Orientador: LEILA BELTRAMI MOREIRA.

Coorientador: RITA DA GRAÇA CARVALHAL FRAZÃO
CORREA.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Hospital de Clínicas de Porto Alegre,
Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica, Porto
Alegre, BR-RS, 2018.

1. MATERIAL BIOLÓGICO. 2. ARMAZENAMENTO. 3.
PADRONIZAÇÃO. 4. BIORREPOSITÓRIO. I. MOREIRA, LEILA
BELTRAMI, orient. II. CORREA, RITA DA GRAÇA
CARVALHAL FRAZÃO, coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de energia e inspiração!

À minha família, meu alicerce de vida!

À minha orientadora, Prof^a Dra. Leila Beltrami Moreira, por todo o tempo dedicado durante a realização deste trabalho e pelos valorosos ensinamentos.

À minha Co-Orientadora, a Prof^a Dra. Rita da Graça Carvalhal Frazão Correa pelo acolhimento e importantes contribuições prestadas.

Ao meu esposo, Diego, por toda a força e incentivo dedicado ao longo desta jornada.

A toda equipe de professores do Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do HCPA que sempre estiveram dispostos a contribuir para o meu crescimento profissional durante o período de aulas e de estágio curricular supervisionado.

Ao HU-UFMA, em nome de toda a equipe do Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade, por me apoiar nesta etapa de crescimento científico e profissional.

À EBSERH pela oportunidade concedida para realização de mais esta meta.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPC – Boas Práticas Clínicas
BTMA – Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
CEPEC – Centro de Pesquisa Clínica
CLSI – Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (do inglês *Clinical and Laboratory Standards Institute*)
CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CNS – Conselho Nacional de Saúde
CO₂ – Gás Carbônico
COMIC – Comissão Científica do HU-UFMA
CONEP – Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
CPC – Centro de Pesquisa Clínica
CPDR – Centro de Prevenção de Doenças Renais
CPU – Unidade Central de Processos (do inglês *Central Process Unit*)
CQ – Controle de Qualidade (ou QC do inglês *Quality Control*)
GQ – Garantia da Qualidade (ou QA do inglês *Quality Assurance*)
DNA – Ácido Desoxirribonucléico (do inglês *Deoxyribonucleic Acid*)
Ebserh – Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
EPECSUS – Programa EBSEH de Pesquisas Clínicas Estratégicas para o Sistema Único de Saúde
FAPEMA – Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão
LEGH – Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade
HC – Hospital de Clínicas
HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HU-UFMA – Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
IARC – Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (do inglês *International Agency for Research on Cancer*)
ID – Identificador Único
ISBER – Sociedade Internacional de Repositórios Biológicos e Ambientais (do inglês *International Society for Biological and Environmental Repositories*)

LN₂ – Nitrogênio Líquido

ML – Medicina Laboratorial

MS – Ministério da Saúde

OMS – Organização Mundial da Saúde

ORPC – Organização Representativa para Pesquisa Clínica

POP – Procedimento Operacional Padrão

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RH – Recursos Humanos

RNA – Ácido Ribonucléico (do inglês *Ribonucleic Acid*)

SBPC – Sociedade Brasileira de Patologia Clínica

SPREC – Código PREanalítico Padrão (*Standard PREanalytical Code*)

SUS – Sistema Único de Saúde

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TI – Tecnologia da Informação

TTMB – Termo de Transferência de Material Biológico

UFTM – Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

WHO – Organização Mundial da Saúde (do inglês *World Health Organization*)

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Principais características dos bancos de material biológico humano utilizado em pesquisa	16
Quadro 2 – Principais exigências técnicas e éticas para constituição e funcionamento dos bancos de material biológico humano utilizado em pesquisa	20
Quadro 3 – descrição das etapas em que cada formulário e POP deverão ser utilizados durante a manipulação	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos pesquisadores responsáveis por grupos de pesquisa que armazenam biorrepositórios no hu-ufma.....	32
Tabela 2 – Tipo de material biológico armazenado como Biorrepositório, local de armazenagem por grupo de pesquisa e aspectos éticos	33
Tabela 3 – Utilização de POP'S para controle de Qualidade nos procedimentos de coleta, processamento, armazenamento, identificação, rotulagem e critérios de não conformidades no manuseio das amostras dos Biorrepositórios do HU-UFMA	34
Tabela 4 – Avaliação pré-analítica das amostras e relato de não conformidades dos Biorrepositórios do HU-UFMA.....	34
Tabela 5 – Funções designadas para membros das equipes de pesquisa quanto à organização dos Biorrepositório e atividades de treinamento realizadas.....	35
Tabela 6 – Eventos rastreáveis durante a guarda dos Biorrepositórios.....	35
Tabela 7 – Formas de identificação e rotulagem dos recipientes contendo as amostras	36
Tabela 8 – Identificação dos POP's existentes para sinalizar não conformidades e rejeitar amostras dos Biorrepositórios	37
Tabela 9 – Características dos gestores dos setores de pesquisas do HU-UFMA....	38
Tabela 10 – Setores de pesquisa do HU-UFMA que possuem funcionários com atribuições específicas para atividades relacionadas aos Biorrepositórios, e suas informações associadas.....	39
Tabela 11 – Itens contemplados pelo programa de treinamento, quando existentes, nos Setores de pesquisa do HU-UFMA que contém Biorrepositórios armazenados	39
Tabela 12 – Levantamento dos POP's existentes para as atividades desenvolvidas durante a manipulação das amostras armazenadas como Biorrepositórios nos Setores de pesquisa do HU-UFMA.....	40
Tabela 13 – Infraestrutura das áreas de armazenamento dos Biorrepositórios.....	41
Tabela 14 – POP's utilizados durante o manuseio de amostras nos setores de pesquisa do HU-UFMA e que contém Biorrepositórios armazenados	42
Tabela 15 – Eventos rastreáveis quanto às variáveis pré-analíticas, registro, perda e descarte de amostras armazenadas nos Setores de pesquisa do HU-UFMA e que contém Biorrepositórios armazenados	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Observações pertinentes sobre Biorrepositório.....	22
Figura 2 - Fluxograma das etapas utilizadas para o desenvolvimento do trabalho ..	30
Figura 3 – Fluxograma de criação de Biorrepositórios no HU-UFMA.....	62
Figura 4 – Fluxograma de manipulação e guarda das coleções de amostras biológicas que compõem os Biorrepositórios do HU-UFMA.....	63

RESUMO

A prática de colecionar material biológico humano na forma de Biorrepositórios (coleção de material biológico humano, coletado e armazenado ao longo da execução de um projeto de pesquisa específico) se tornou essencial para o avanço da pesquisa clínica. Contudo, normativas nacionais e internacionais recomendam a utilização de uma padronização mínima nas diversas práticas que abrangem a manipulação, gerenciamento e armazenamento de tais amostras e suas informações associadas de modo a garantir a qualidade dos resultados das pesquisas, ao mesmo tempo assegurar os padrões éticos e legais, respeitando o princípio da dignidade humana. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar os setores de pesquisa do HU-UFMA (Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão/HU-UFMA) que armazenam Biorrepositórios, quanto aos recursos humanos, estrutura física e padrões técnicos existentes, bem como desenvolver os Procedimentos Operacionais Padrão (POP's) para manipulação e guarda das amostras biológicas pertencentes á estes Biorrepositório e outros que poderão vir a ser criados. Para cumprir tais objetivos foram feitas visitas aos setores do hospital aonde são desenvolvidas as pesquisas; e aplicação de questionário com os Pesquisadores Responsáveis pelos grupos de pesquisa e com os Gestores dos setores de pesquisa na instituição. Os resultados dos questionários apontaram que alguns setores de pesquisas não contêm, e outros, estão em fase de desenvolvimento de seus POP's para coleta, manipulação, gerenciamentos e guarda de Biorrepositórios, e que alguns grupos de pesquisas possuem, de forma isolada, POP's para alguma das etapas de manipulação das amostras biológicas de seus Biorrepositórios. Foram identificados, ainda, os materiais biológicos que compõem os Biorrepositórios dos estudos realizados na instituição. A partir daí, realizou-se consultas a alguns dos POP's existentes nos grupos de pesquisas e POP's assistenciais de um dos setores estudado, para um melhor embasamento sobre os métodos utilizados nas pesquisas da instituição, além das diretrizes nacionais e internacionais sobre o tema abordado. O resultado foi a elaboração de POP's para coleta, processamento e armazenamento das coleções de Biorrepositórios armazenados nos setores de pesquisas; elaboração de um manual de coleta, processamento, armazenamento e descarte das amostras visando à criação de Biorrepositórios; criação de formulários para registro das variáveis pré-analíticas existentes nas etapas de manipulação e guarda das amostras; e criação de modelos de formulários para cadastro do participante da pesquisa e de amostras armazenadas, no hospital.

Palavras-chave: Material Biológico; Armazenamento; Padronização; Biorrepositório.

ABSTRACT

The practice of collecting human biological material in the form of bio-repositories (collection of human biological material, collected and stored throughout the execution of a specific research project) has become essential for the advancement of clinical research. However, national and international regulations recommend the use of a minimum standardization in the various practices that cover the handling, management and storage of such samples and their associated information in order to guarantee the quality of the results of the research, at the same time assuring the ethical and respecting the principle of human dignity. In this context, the objective of the present study was to characterize the research sectors of the HU-UFMA (University Hospital of the Federal University of Maranhão / HU-UFMA) that store Biorepositories in terms of human resources, physical structure and existing technical standards, as well as to develop the Standard Operating Procedures (SOPs) for manipulation and storage of the biological samples belonging to these bio-repositories and others which may be drawn. In order to fulfill these objectives visits were made to the sectors of the hospital where the research is carried out; and questionnaire application with the Researchers Responsible for the research groups and with the managers of the research sectors in the institution. The results of the questionnaires pointed out that some research sectors do not contain, and others, are in the development phase of their POPs to collect manipulation, management and custody of bio-repositories, and that some research groups have, in isolation, POP's for some steps of manipulating the biological samples of their bio-repositories. It was also identified the biological materials that make up the bio-repositories of the studies carried out at the institution. From then on, consultations were carried out with some of the existing POPs in the research groups and welfare POPs of one of the studied sectors, for a better basis on the methods used in the research of the institution, besides the national and international guidelines on the subject addressed. The result was the elaboration of POP's for the collection, processing and storage of the collections of bio-repositories stored in the research sectors; preparation of a manual for the collection, processing, storage and disposal of samples for the creation of bio-repositories; creation of forms for recording the pre-analytical variables in the sample handling and storage stages; and creation of template forms for registration of the research participant and of stored samples in the hospital.

Keywords: Biological Material; Storage; Standardization; Biorepository.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Características e Conceito de Biorrepositório e Biobanco.....	14
2.2 Aspectos Legais e Éticos para a Constituição de Biorrepositório e Biobanco.....	16
2.3 Material Biológico Humano.....	23
2.4 Considerações Sobre o Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão – HUUFMA.....	24
3. JUSTIFICATIVA	25
4. OBJETIVOS	26
4.1 Objetivos Gerais.....	26
4.2 Objetivos Específicos	26
5. MÉTODO.....	27
6. RESULTADOS	31
6.1 Respostas obtidas através do questionário para o pesquisador responsável	31
6.1.1 Perfil dos Pesquisadores Responsáveis por Grupos de Pesquisa que Armazenam Biorrepositórios no HU-UFMA.....	31
6.1.2 Tipo de material biológico que constituem os Biorrepositórios armazenados no HU-UFMA e atendimento às exigências éticas	32
6.1.3 Controle de Qualidade.....	33
6.1.4 Recursos humanos e treinamento dos grupos de pesquisas	34
6.1.5 Registro, identificação e rastreabilidade das amostras	35
6.1.6 Equipamentos de armazenagem.....	36
6.1.7 Coleta, processamento e armazenamento de amostra	36
6.1.8 Transporte de amostras	37
6.2 Respostas Obtidas Através do Questionário para o Gestor dos Setores de Pesquisa.....	37
6.2.1 Perfil dos gestores dos setores de pesquisas do HU-UFMA.....	37
6.2.2 Recursos humanos nos setores de pesquisa do HU-UFMA	38
6.2.3 Treinamento e Biossegurança.....	39
6.2.4 Gestão de Qualidade.....	40
6.2.5 Instalações e Segurança	40
6.2.6 Equipamentos de Armazenagem	42

6.2.7 Coleta, processamento, identificação, registro e rastreabilidade de amostras .	42
6.2.8 Políticas de auditoria, tempo de manutenção de registros e transferência de material biológico	43
6.2.9 Procedimentos Operacionais Padrões Utilizados no Biobanco Institucional	45
7. PRODUTOS DA DISSERTAÇÃO	45
7.1 Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios	45
7.2 Procedimentos Operacionais Padrão (POPs)	46
7.3 Modelos de Formulários de Registros de Informações visando à sua utilização nas etapas de coleta, processamento e armazenamento do material biológico usado nas pesquisas	48
7.4 Modelo de formulário, visando à criação do Sistema de Cadastro do Participante da Pesquisa e geração do ID (identificador único) do participante.....	49
7.5 Modelo de formulário, visando a criação do Sistema de Cadastro de Amostra Biológica e geração do ID (Identificador Único) da amostra armazenada.....	50
8. APLICABILIDADE DOS PRODUTOS	56
9. INSERÇÃO SOCIAL	56
10. DISCUSSÃO	56
11. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
REFERÊNCIAS	66
APÊNDICES	68
APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO PARA O PESQUISADOR RESPONSÁVEL	69
APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO PARA O GESTOR DO SETOR DE PESQUISA	77
APÊNDICE C – PRODUTOS.....	88

1 INTRODUÇÃO

A guarda de coleções de materiais biológicos, tanto na forma de Biobanco, como na forma de Biorrepositórios, se tornou essencial para o avanço da Pesquisa Clínica, especialmente nas áreas biomédica que utilizam diversos tipos de amostras como, tecidos, fluidos corporais e ácidos nucléicos. A complexidade desta atividade tem gerado um amplo esforço a nível mundial de se chegar a uma padronização mínima nas diversas práticas que abrangem o gerenciamento e armazenamento de tais amostras e informações associadas de modo a garantir a qualidade dos resultados das pesquisas, ao mesmo tempo assegurar os padrões éticos e legais, respeitando o princípio da dignidade humana.

No Maranhão, o Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HU-UFMA) possui quatro setores que atuam em pesquisa e que armazenam material biológico, quais sejam: Centro de Pesquisa Clínica; Laboratório de Estudos Genômicos e Histocompatibilidade; e Centro de Prevenção de Doenças Renais. Os dois últimos são setores que realizam atividades de assistência e pesquisa, estando tais atividades contempladas em seus respectivos regimentos internos, e o primeiro é um setor somente de pesquisa. O quarto setor é o Biobanco, que consiste em Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA) com protocolo específico e aprovado pelo Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Quanto às pesquisas realizadas, de acordo com relatório da Gerência de Ensino e Pesquisa, atualmente estão sendo desenvolvidos 42 projetos de pesquisa no hospital utilizando material biológico humano. A maioria destes materiais biológicos consiste em Biorrepositórios, sendo que a sua guarda é distribuída, principalmente, nos freezers -80°C e freezers -20°C pertencentes à instituição.

Em face do exposto, a proposta do presente trabalho consiste em desenvolver Procedimentos Operacionais Padrões (POP's) para guarda de material biológico humano constituídos em Biorrepositórios para armazenamento a longo prazo nos setores de pesquisas do HU-UFMA, contemplando a padronização da coleta, processamento e armazenamento de material biológico. Para subsidiar este trabalho realizou-se consulta as normativas vigentes e literaturas disponíveis sobre o tema em questão; visitas aos setores do HU-UFMA aonde são desenvolvidas as pesquisas; e aplicação de questionário com os Pesquisadores Responsáveis pelos grupos de pesquisa e com os Gestores dos setores de pesquisa no Hospital.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Características e Conceito de Biorrepositório e Biobanco

O armazenamento de material biológico é uma prática antiga e ocorre em instituições de saúde do mundo todo. Porém, os termos Biobanco e Biorrepositório “neologismo, utilizado por cientistas e administradores de instituições relacionadas à saúde” (FERNANDES et al., 2014, p. 296), são recentes e surgiram, principalmente, nas atividades de armazenamento de material biológico para fins de pesquisas. As definições para tais termos apareciam bastante similar a nível internacional sendo que, até hoje, é utilizado como sinônimos em algumas instituições, como WHO-IARC (2017, p. 2) que incorpora no conceito de Biobanco tanto a infraestrutura para armazenamento e serviços relacionados aos bioespécimens e seus dados associados, como os procedimentos de coleta, registro e armazenamento de amostras biológicas e suas informações associadas; e considera Biorrepositório o mesmo que Biobanco.

No Brasil, embora tenha ocorrido a elaboração e aprovação de algumas normativas, como a Lei nº 11.105 de 24 de março de 2005 (Lei de Biossegurança) e a Resolução do CNS nº 347 de 2005 que aprovou as diretrizes para análise ética de projetos de pesquisa que envolva armazenamento de materiais ou uso de materiais armazenados em pesquisas anteriores, a falta de definições e normatizações específicas sobre as práticas de Biobanco e Biorrepositório ainda era um entrave.

Por outro lado, o avanço da pesquisa nas áreas da genética e biologia molecular que implica na “crescente necessidade de armazenar materiais biológicos humanos, informações clínicas relacionadas e sua correspondente identificação em biorepositórios e biobancos” (ASHTON-PROLLA et al., 2009, p. 74), suscitou no país, um amplo debate entre diversos atores (pesquisadores, entidades governamentais e não governamentais, gestores, profissionais e a comunidade em geral), especialmente entre os anos de 2009 a 2011.

Em consequência, as atividades de Biobanco e Biorrepositório foram fazendo-se notar gradativamente por meio, sobretudo, de artigos, revistas e eventos científicos e os conceitos começaram a ser aprimorados no Brasil. Fernandes et al. (2010), estabeleceu alguns padrões legais, técnicos e éticos aplicáveis a estas entidades biológicas na instituição e apresentou uma definição clara para Biobanco, Biorrepositório e Unidade de Recursos Biológicos, a saber:

Biorrepositório, uma coleção de materiais biológicos humanos e informações associadas, vinculada e de uso limitado a projeto de pesquisa específico [...]; Biobanco, uma coleção de materiais biológicos humanos e informações associadas doadas à instituição para fins de pesquisa e para uso compartilhado em projetos de pesquisa [...]; e Unidade de Recursos Biológicos (URB) é a estrutura [...] que garante as condições adequadas para as atividades de Biobanco e Biorrepositórios [...]. (FERNANDES et al. 2010, p. 6).

A mobilização em torno desta temática resultou no ano de 2011, em duas normativas que regulam, atualmente, as atividades envolvendo Biorrepositórios e Biobanco no país, são elas: a homologação pelo Conselho Nacional de Saúde da Resolução nº 441, de 12 de maio de 2011 que aprova as diretrizes para análise ética de projetos de pesquisas que envolvam armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas anteriores, e publicação pelo Ministério de Estado da Saúde, da Portaria nº 2.201, de 14 de setembro de 2011, na qual se estabelece as Diretrizes Nacionais para Biorrepositório e Biobanco de Material Biológico Humano com Finalidade de Pesquisa.

De acordo com tais normativas, os bancos de materiais biológicos são de dois tipos:

1. Biobanco:

Coleção organizada de material biológico humano e informações associadas, coletado e armazenado para fins de pesquisa, conforme regulamento ou normas técnicas, éticas e operacionais pré-definidas, sob-responsabilidade e gerenciamento institucional dos materiais armazenados, sem fins comerciais. (BRASIL, 2011a, p. 2 e BRASIL, 2011b, p. 1).

2. Biorrepositório:

Coleção de material biológico humano, coletado e armazenado ao longo da execução de um projeto de pesquisa específico, conforme regulamento ou normas técnicas, éticas e operacionais pré-definidas, sob-responsabilidade institucional e sob gerenciamento do pesquisador, sem fins comerciais. (BRASIL, 2011a, p. 2 e BRASIL, 2011b, p. 1).

Outras características e diferenças aplicadas a estes dois tipos de coleções de material biológico estão apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1 – Principais características dos bancos de material biológico humano utilizado em pesquisa.

CARACTERÍSTICAS	TIPO DE BANCO DE MATERIAL BIOLÓGICO HUMANO		
	BIOBANCO	BIORREPOSITÓRIO ATRELADO A UM PROJETO ESPECÍFICO	BIORREPOSITÓRIO ATRELADO A UM PROJETO ESPECÍFICO, VISANDO À UTILIZAÇÃO EM PESQUISAS FUTURAS
Intenção da coleta	Para fins de pesquisa, sem ser atrelado a projeto de pesquisa específico.	Para projeto de pesquisa específico.	Para pesquisa específica e para outras no futuro.
Intenção de armazenamento após processamento do material biológico	Utilização em pesquisa (s) futura (s).	Repetir testes e confirmar resultados da pesquisa em curso.	Repetir testes e confirmar resultados da pesquisa em curso e utilização em pesquisa (s) futura (s) (novos protocolos de pesquisa aprovados por CEP ou CONEP).
Responsabilidade pela guarda do material biológico	Institucional	Institucional	Institucional
Responsabilidade pelo gerenciamento do material biológico	Institucional	Pesquisador	Pesquisador
Prazo de armazenamento	Enquanto durar o biobanco.	Enquanto durar a pesquisa.	Deve estar de acordo com o cronograma da pesquisa, prorrogável por meio de solicitação do pesquisador e aprovação do Sistema CEP/Conep, podendo ser autorizado por até 10 anos.

Fonte: Brasil (2011a, 2011b).

2.2 Aspectos Legais e Éticos para a Constituição de Biorrepositório e Biobanco

Historicamente os dispositivos legais que mais auxiliaram para a construção das diretrizes atuais para análise ética de projetos de pesquisas que envolvam armazenamento de material biológico humano no Brasil, foram: Código de Nuremberg, de 1947; Declaração de Helsink, de 1964; Declaração Universal Sobre Bioética e Direitos Humanos, de 2005; e legislações nacionais como: Constituição Federal de 1988, Resolução 196/96 do CNS que aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos (revogada pela Resolução 466 de 12 de dezembro de 2012 do CNS); Resolução da ANVISA nº 306

de 07/12/2004 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de Saúde; Resolução nº 347, de 13 de Janeiro de 2005 que aprova as diretrizes para análise ética de projetos de pesquisa que envolva armazenamento de materiais ou uso de materiais armazenados em pesquisas anteriores; e Lei nº 11.105 de 24 de março de 2005 (Lei de Biossegurança). Hoje, as normativas nacionais que regulam as atividades de Biorrepositórios são a Portaria nº 2.201 do MS e a Resolução nº 441 do CNS, citadas no item anterior.

A Portaria nº 2.201 é composta de 28 artigos referentes à criação e funcionamento dos Biorrepositórios. Um dos pontos que merece destaque nesta normativa é garantia do acesso gratuito do participante da pesquisa aos resultados obtidos a partir do seu material biológico humano armazenado e às orientações quanto às suas implicações, incluindo o aconselhamento genético, quando aplicável.

A Resolução nº 441 contém 18 artigos dispendo sobre as definições e regulamentos relacionados à Biobanco e Biorrepositório, e exigências éticas para coleta, depósito, armazenamento, utilização e descarte de material biológico humano em Biorrepositório e Biobanco.

Um aspecto em comum que merece destaque nestas duas normativas supracitadas é que em ambas as formas de armazenamento, o material biológico humano pertence ao sujeito da pesquisa. Isto demonstra o seu alinhamento com a Constituição Federal de 1988 que assegura no seu Art. 5º os Direitos e Garantias Fundamentais do indivíduo, como por exemplo, o inciso x, aonde consta que “são invioláveis a intimidade, a vida privada, a honra e a imagem das pessoas” (BRASIL, 1988, p. 17); e com os tratados e acordos internacionais, como a UNESCO (2005) que declarou que, as informações que dizem respeito ao indivíduo não devem ser utilizadas ou difundidas para outros fins que não aqueles para que foram consentidos.

Sobre este assunto, Fernandes et al. (2010, p. 7) e Brasil (2011b, p. 5) esclarecem que, no caso de Biorrepositório, a garantia das condições necessárias à segurança e à privacidade dos dados e das informações associadas referentes às amostras, é atribuição do pesquisador responsável pelo projeto de pesquisa.

Informações associadas para Fernandes et al (2010, p. 6) são “todos os dados que se relacionem ou que caracterizem o material biológico armazenado, independentemente da forma ou do meio de registro”.

Outros aspectos importantes previstos nestas duas normativas são:

- A obrigatoriedade do TCLE para a coleta, armazenamento, utilização e descarte de material biológico humano em Biorrepositório e Biobanco, sendo que para Biorrepositório o termo é específico para cada pesquisa. Ressalta-se que a simples assinatura do TCLE pelo participante para a transferência das amostras, não é o suficiente para o seu uso em pesquisas futuras. O uso destas estará condicionado à: aprovação do novo projeto de pesquisa pelo Sistema CEP/CONEP e; verificar se o participante optou pela dispensa ou re consentimento a cada nova pesquisa, conforme foi declarado no TCLE do Biobanco. Caso tenha optado por re consentimento, deverá ser apresentado um TCLE específico referente ao novo projeto de pesquisa, para que o participante possa se manifestar formalmente.
- A previsão da necessidade de um sistema seguro de identificação nos Biobancos, que garanta o sigilo, o respeito à confidencialidade e à recuperação dos dados dos sujeitos da pesquisa, para fornecimento de informações do interesse destes ou para a obtenção de consentimento específico para utilização em nova pesquisa.
- Garantia de informação ao participante da pesquisa sobre a perda ou destruição de suas amostras biológicas, sobre o encerramento do Biobanco ou do Biorrepositório, quando for o caso, bem como sobre a transferência do material biológico humano armazenado entre biorrepositório ou biobanco, da própria ou de outra instituição;
- A possibilidade da retirada do consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado a qualquer tempo pelo sujeito da pesquisa, ou seu representante legal, valendo a desistência a partir da data de formalização desta.
- A previsão de dois tipos de TCLE a serem apreciados pelo Sistema CEP/CONEP para o novo protocolo de pesquisa que pretende utilizar amostras anteriormente coletadas e que estão armazenadas em biorrepositório de uma pesquisa prévia: o modelo que foi utilizado por ocasião da coleta e armazenamento do material biológico (pesquisa prévia); e o modelo que será utilizado para solicitar autorização do uso do material biológico armazenado (pesquisa vigente).
- A possibilidade de o sistema CEP/CONEP autorizar, ou não, a utilização do material biológico humano armazenado em Biorrepositório, quando fundamentada a impossibilidade de obtenção do consentimento específico para a nova pesquisa, ou em Biobanco mediante opção do sujeito em ser consultado a cada pesquisa.

- A proibição do patenteamento de material biológico humano armazenado em biorrepositório ou Biobanco, bem como a sua utilização para fins comercial, seja no país ou no exterior.

Informações detalhadas sobre submissão de projeto de pesquisa e apreciação ética visando à constituição de Biorrepositórios, estão disponíveis na Norma Operacional nº 001/2013 do CNS¹ e no Manual de Orientação da CONEP (2015)².

Outros aspectos éticos e legais referentes à criação e funcionamento de Biorrepositórios e Biobancos contemplados na Portaria nº 2.201 do MS e na Resolução nº 441 do CNS estão apresentados no Quadro 2.

Esclarecer aqui o conceito e diferenças técnicas e legais entre Biorrepositório e Biobanco tornou-se indispensável por tais atividades andarem lado a lado, tanto no campo operacional quanto no campo normativo, contudo os itens que seguem serão voltados principalmente à aplicação em Biorrepositórios por ser o foco deste trabalho.

¹ BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Norma Operacional nº 001. Dispõe sobre a organização e funcionamento do Sistema CEP/CONEP, e sobre os procedimentos para submissão, avaliação e acompanhamento da pesquisa e de desenvolvimento envolvendo seres humanos no Brasil. Brasília, 2013.

² CONEP/CNS/MS. Manual de Orientação: Pendências Frequentes em Protocolos de Pesquisa Clínica. v. 1, Brasília, 2015. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/aquivos/documentos/MANUAL_ORIENTACAO_PENDENCIAS_FREQUENTES_PROTOCOLOS_PESQUISA_CLINICA_V1.pdf>. Acesso em 21 de janeiro de 2018.

Quadro 2 – Principais exigências técnicas e éticas para constituição e funcionamento dos bancos de material biológico humano utilizado em pesquisa.

EXIGÊNCIAS	BANCOS DE MATERIAL BIOLÓGICO HUMANO		
	BIOBANCO	BIORREPOSITÓRIO ATRELADO A UM PROJETO ESPECÍFICO	BIORREPOSITÓRIO ATRELADO A UM PROJETO ESPECÍFICO, VISANDO À UTILIZAÇÃO EM PESQUISAS FUTURAS
Regulamento	Protocolo de Desenvolvimento (aprovado pela Conep).	Deve estar explicitado no projeto de pesquisa respectivo, devendo estar aprovado pelo CEP institucional ou por CEP indicado pela CONEP,	Deve estar explicitado no projeto de pesquisa respectivo, devendo estar aprovado pelo CEP institucional ou por CEP indicado pela CONEP,
Consentimento para a coleta do material biológico	TCLE do Biobanco aprovado pela Conep (parte integrante do Protocolo de Desenvolvimento do biobanco).	TCLE específico da pesquisa em curso.	TCLE específico da pesquisa em curso, devendo constar sobre possível utilização futura.
Consentimento para uso do material biológico	Participante escolhe se quer ser consultado ou não a cada pesquisa no TCLE. Um novo TCLE específico para cada pesquisa futura deve ser apresentado para aqueles que desejam ser consultados (reconsentimento).	TCLE específico da pesquisa em curso.	Solicitação do pesquisador responsável, ao CEP, acompanhada de justificativa e relatório das atividades de pesquisa desenvolvidas com o material durante o período. O sujeito da pesquisa deverá ser contatado para consentir, a cada nova pesquisa, sobre a utilização do material biológico humano, formalizando-se o consentimento por meio de TCLE específico.
Compartilhamento de material biológico humano e informações associadas entre instituições parceiras no país.	Acordo firmado entre as instituições participantes, contemplando, dentre outros, a forma de operacionalização, compartilhamento e utilização do material biológico humano armazenado.	Acordo firmado entre as instituições participantes, contemplando, dentre outros, a forma de operacionalização, compartilhamento e utilização do material biológico humano armazenado; e aprovação pelos CEPs das instituições respectivas.	Acordo firmado entre as instituições participantes, contemplando, dentre outros, a forma de operacionalização, compartilhamento e utilização do material biológico humano armazenado; e aprovação pelos CEPs das instituições respectivas.

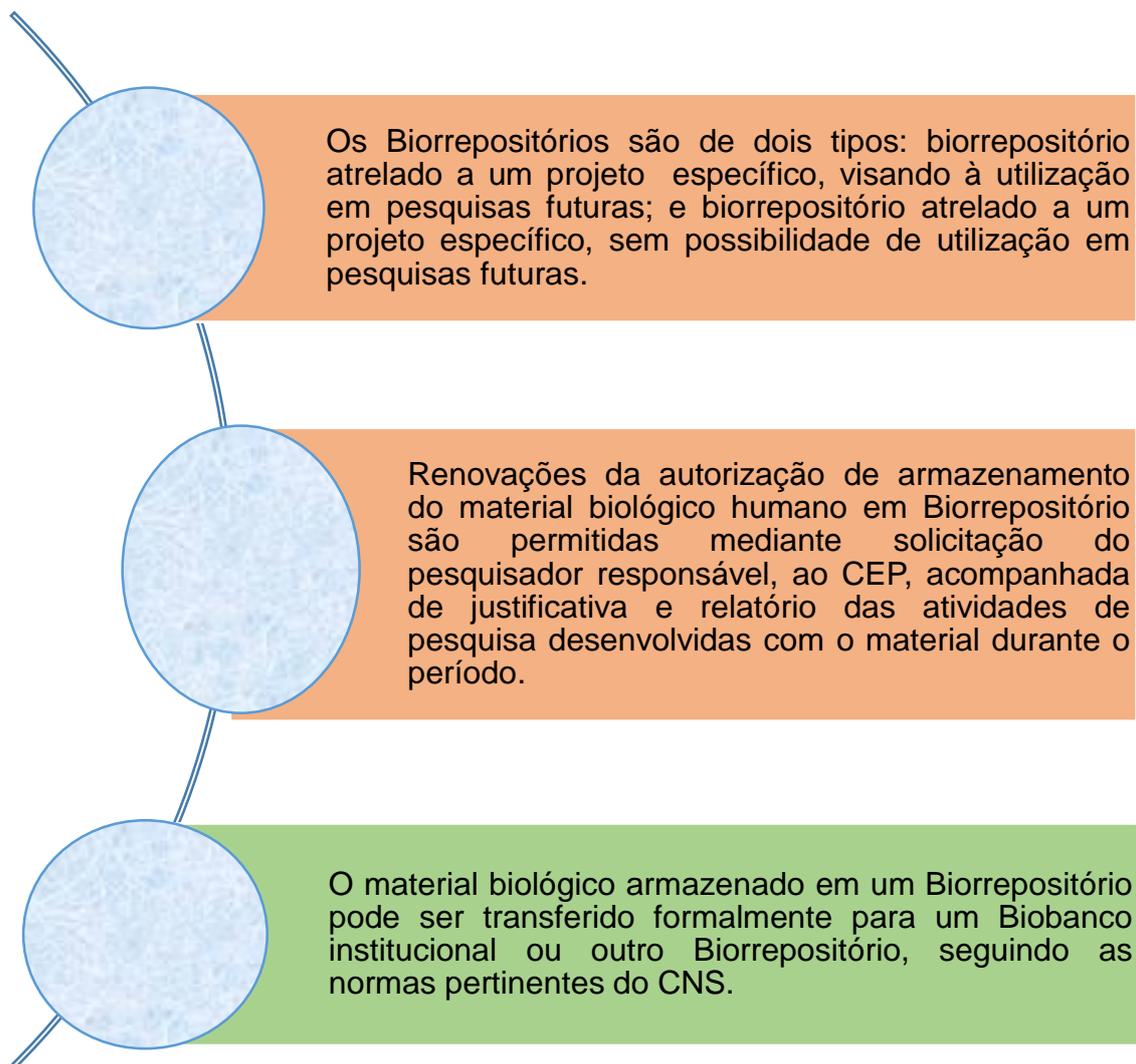
(Continua...)

Quadro 2 (Conclusão) – Principais documentos exigíveis para constituição e funcionamento dos bancos de material biológico humano utilizado em pesquisa

EXIGÊNCIAS	BANCOS DE MATERIAL BIOLÓGICO HUMANO		
	BIOBANCO	BIORREPOSITÓRIO ATRELADO A UM PROJETO ESPECÍFICO	BIORREPOSITÓRIO ATRELADO A UM PROJETO ESPECÍFICO, VISANDO À UTILIZAÇÃO EM PESQUISAS FUTURAS
Compartilhamento de material biológico humano e informações associadas entre instituições parceiras no exterior.	Além das exigências contidas no acordo firmado entre as instituições participantes, devem ser obedecidas as normas nacionais e internacionais para remessa de material e ser apresentado o regulamento da instituição destinatária para análise do Sistema CEP/CONEP. O pesquisador e instituição brasileiros devem ter direito ao acesso e à utilização em pesquisas futuras, do material biológico humano armazenado no exterior, bem como a suas informações associadas.	Além das exigências contidas no acordo firmado entre as instituições participantes, devem ser obedecidas as normas nacionais e internacionais para remessa de material e ser apresentado o regulamento da instituição destinatária para análise do Sistema CEP/CONEP.	Além das exigências contidas no acordo firmado entre as instituições participantes, devem ser obedecidas as normas nacionais e internacionais para remessa de material e ser apresentado o regulamento da instituição destinatária para análise do Sistema CEP/CONEP. O pesquisador e instituição brasileiros devem ter direito ao acesso e à utilização em pesquisas futuras, do material biológico humano armazenado no exterior, bem como a suas informações associadas.
Transferência do material biológico	Termo de Transferência de Material Biológico (TTMB) entre os responsáveis legais pelas instituições envolvidas; aprovação dos CEPs das instituições envolvidas.	Não se aplica	Deve seguir às normativas vigentes de transporte, processamento, após comunicação ao participante e aprovação do CEP.

Fonte: Brasil (2011a, 2011b).

Figura 3 – Observações pertinentes sobre Biorrepositório.



Fonte: Brasil (2011a, 2011b).

2.3 Material Biológico Humano

As RDC's ANVISA dispõem que:

- Amostra Biológica: “é a parte representativa de um espécime”. (BRASIL, 2006, p. 3).
- Espécime: “qualquer material biológico humano como órgãos, tecidos, fluidos corporais, obtido de um único sujeito, em momento específico”. (BRASIL, 2006, p. 3).
- Analito:

Componente ou constituinte de material biológico ou amostra de paciente, passível de pesquisa ou análise por meio de sistema analítico de laboratório clínico. Isso inclui qualquer elemento, íon, composto, substância, fator, agente infeccioso, célula, organela, atividade, propriedade ou outras características que devem ser determinadas. (BRASIL, 2011, p. 4).
- Alíquota:

É o processo em que uma amostra é dividida em várias partes e armazenada em recipientes separados como amostras individuais. O termo alíquota também pode ser usado como um substantivo para denotar uma única amostra. (BRASIL, 2006, p. 3).
- Material Biológico Humano: “espécimes, amostras e alíquotas de material original e seus componentes fracionados”. (BRASIL, 2011a, p. 4).

Existe uma variedade muito grande de material biológico humano, alguns exemplos citados pela IARC (2017, p. 41) são: “sangue total e derivados; tecidos sólidos; urina; células bucais e saliva; lavado broncoalveolar; aspirado de medula óssea; líquido cefalorraquidiano; sêmen; swabs cervicais e uretrais; cabelo; unhas”. A representatividade desta grande variedade de material biológico é um ponto crítico “especialmente em países com significativa diversidade étnica da população”. (ASHTON-PROLLA, 2009, p. 75).

Como exemplo de fatores críticos, a ISBER (2012, p. 65) cita a elasticidade da amostra ao resfriamento, congelamento e desidratação induzida pelo frio, e tendo em vista estas peculiaridades, esta organização orienta que a disponibilidade de amostras biológica de alta qualidade para fins de pesquisa requer o desenvolvimento de métodos padronizados de coleta, armazenamento e recuperação em repositórios biológicos.

2.4 Considerações Sobre o Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão – HUUFMA

O HU-UFMA é um hospital universitário filiado à Rede EBSEERH e integra a estrutura orgânica do SUS. Criado em 1991, hoje dispõe de 573 leitos, 28 especialidades médicas e realiza oito tipos de cirurgias, dentre elas, transplante renal e de córnea. Realiza procedimentos de alta e média complexidade, e alguns programas estratégicos de atenção básica integrados ao SUS¹.

Em relação às pesquisas desenvolvidas, o hospital conta com 4 setores de pesquisas, a saber:

- **Biobanco:** consiste em Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA) com protocolo específico atendendo aos requisitos da Portaria MS nº 2.201/2011 e da Resolução CNS nº 441/2011 e aprovado pelo Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). No BTMA, são guardadas amostras de diversos tipos de câncer, como os de pênis, colo de útero, vagina, reto, canal anal e cavidade oral. Há também fragmentos do tumor do câncer de mama. Morais (2018) explica que as amostras são coletadas de fragmentos de tecido tumoral, bem como de tecido sadio e líquidos biológicos cedidos por pacientes assistidos no HU-UFMA e de outras instituições*. O setor de Biobanco contém ainda, um laboratório de biologia molecular aonde é realizado pesquisas científicas.

- **CEPEC:** Centro de Pesquisa Clínica do HU-UFMA; inaugurado em 2007; conta com laboratórios de Pesquisa Clínica, Biologia Molecular e de Microscopia Eletrônica e de Imagens, consultórios de ginecologia e de enfermagem, e salas de procedimentos de coleta de material biológico. É um setor exclusivo para desenvolver atividades de pesquisa.

- **LEGH:** Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade. É um setor de Assistência e que realiza pesquisas nas áreas de Biologia Molecular e Imunogenética. No setor há coleta para os procedimentos de assistência e eventualmente são realizadas coleta para a pesquisa.

CPDR: Centro de Prevenção de Doenças Renais; atua na Assistência e na Pesquisa com Doenças Renais Crônicas. Neste setor, é realizada coleta para os procedimentos de assistência e também para a pesquisa.

¹ Fonte: <http://www.ebserh.gov.br/web/hu-ufma>.

* <http://www.ebserh.gov.br/web/hu-ufma>.

3 JUSTIFICATIVA

Apesar do evidente avanço na estruturação dos setores que armazenam material biológico em Biobancos e Biorrepositórios no país, a falta de normatizações que assegurem a elaboração e uso de protocolo para ser utilizado nas etapas pré-analíticas da pesquisa, ainda é um obstáculo a ser superado.

Os Biorrepositórios existentes em instituições de saúde no Brasil estão, em sua maioria, de maneira informal, sem um gerenciamento adequado nos seus diversos percursos. As coleções biológicas são armazenadas em freezers de laboratórios assistenciais, em centros de pesquisas e em áreas próprias fora da instituição, sem um controle adequado das condições pré-analíticas das amostras e informações associadas.

Neste sentido, a elaboração e posterior implementação de protocolos para a manipulação de amostras e seu armazenamento em Biorrepositórios é de grande relevância para a pesquisa clínica, pois busca: atender com rigor os padrões técnicos, éticos e operacionais; gerenciar todo o percurso da amostra e informações associadas; e garantir a representatividade e a integridade do material biológico durante as fases pré-analíticas. Além disso, torna mais evidente o papel da instituição como responsável pela coleção do material biológico armazenado e o pesquisador responsável, como gerenciador, seguindo protocolos e regulamentos específicos.

No Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, alguns documentos para regularização dos Biorrepositório existentes estão em fase de elaboração, quais sejam: Regulamento para armazenamento de material biológico em Biorrepositório; Termo de anuência para coleta e processamento de amostras biológicas para exames dos participantes da pesquisa; Solicitação de armazenamento do Biorrepositório; e Solicitação de coleta e processamento de amostras biológicas para o Biorrepositório. Outros documentos precisam ser elaborados para posterior informatização por meio do Setor de TI (Tecnologia da Informação). Dentre estes, destacam-se: Modelos de Formulários Para Cadastro de Pesquisa que utilizam Biorrepositorios e para Cadastro das Amostras e Informações Associadas; e Procedimentos Operacionais Padrões para guarda de Biorrepositórios. A elaboração de tais documentos poderá auxiliar os pesquisadores e instituição na organização e regularização destas coleções biológicas.

4 OBJETIVOS

OBJETIVOS

4.1 Objetivos Gerais

- a) Caracterizar os setores que armazenam Biorrepositórios, quanto aos recursos humanos, estrutura física e padrões técnicos existentes.
- b) Desenvolver os Procedimentos Operacionais Padrões para guarda de Biorrepositórios no Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HU-UFMA).

4.2 Objetivos Específicos

- 1) Caracterizar o perfil dos gestores e dos pesquisadores responsáveis;
- 2) Descrever os tipos de materiais biológicos utilizados nas pesquisas
- 3) Identificar os procedimentos operacionais padrões existentes;
- 4) Conhecer as formas de identificação, registro e rastreabilidade das amostras armazenadas para pesquisa na instituição;
- 5) Elaborar um manual de coleta, processamento, armazenamento e descarte de material biológico humano visando à constituição de Biorrepositórios;
- 6) Propor modelos de formulários para cadastro de pesquisa e de amostras;
- 7) Propor modelo de formulários de registros para coleta, processamento e armazenamento do material biológico utilizado;
- 8) Propor o fluxograma para o funcionamento de Biorrepositório no HUUFMA.

5. MÉTODO

Trata-se de um estudo descritivo desenvolvido da seguinte forma:

- Aspectos Éticos

Para o desenvolvimento deste trabalho, o projeto foi, a princípio, submetido à apreciação da Comissão Científica do HU-UFMA (COMIC) para autorização da Pesquisa. Posteriormente, o mesmo foi avaliado pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP's) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, para a aprovação ética. Após, foi realizado a aplicação dos questionários com os Pesquisadores Responsáveis pelos grupos de pesquisas e Gestores dos Setores de Pesquisas do hospital, sendo obtido o consentimento de todos os participantes, através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

- Critérios de Inclusão

Setores que desenvolve pesquisas e que armazenam material biológico humano em forma de Biorrepositórios.

- Local de Estudo

Este estudo foi realizado nos setores de pesquisas do HU-UFMA que armazenam Biorrepositórios. Os três Setores são: Centro de Pesquisa Clínica (CEPEC); Laboratório de Estudos Genômicos e Histocompatibilidade (LEGH) e Centro de Prevenção de Doenças Renais (CPDR). O CEPEC é um Setor de pesquisas, e o LEGH e CPDR realizam atividades de assistência e pesquisa. Além destes três setores, foram feitas visitas ao Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA) pertencente ao hospital com o intuito de identificar os POP's existentes para guarda de material biológico e equipamentos de armazenagem utilizados. O setor de Biobanco não entrou na coleta de dados por não conter Biorrepositórios armazenados. Apesar de não ter sido realizado a coleta de dados, as visitas com eventuais anotações neste setor constam no projeto aprovado pelo CEP do HU-UFMA.

- Coleta de Dados

Para a coleta de dados foi aplicado dois tipos de questionários, um para cada Gestor dos três Setores de Pesquisas (total de três gestores) e outro para cada um dos Pesquisadores Responsáveis pelos Grupos de Pesquisas (total de sete pesquisadores) que colecionam material biológico na forma de Biorrepositórios. Para a aplicação dos questionários, primeiramente houve reuniões com os Pesquisadores Responsáveis pelos Grupos de Pesquisas e com os Gestores dos Setores, com o intuito tanto de informar sobre os objetivos da pesquisa, como de obter parceria para o desenvolvimento do trabalho. Em um segundo momento foi feito duas visitas pré-agendadas em cada Setor. Em uma das ocasiões, foi aplicado o TCLE com os três Gestores dos Setores de Pesquisas e em seguida o questionário foi disponibilizado para autopreenchimento; e na outra ocasião, o consentimento foi obtido dos sete Pesquisadores Responsáveis, com posterior aplicação do questionário. Tanto o questionário do Gestor como do Pesquisador foram autopreenchíveis, com formato impresso, e aplicado entre outubro a dezembro de 2017, visando à coleta de dados.

O questionário respondido pelos pesquisadores conteve questões sobre: perfil do pesquisador; tipo de amostra biológica que constituem os Biorrepositórios armazenados; local de armazenamento e equipamentos utilizados para a guarda dos Biorrepositórios; procedimentos escritos para coleta, processamento e armazenamento do material biológico, bem como procedimentos escritos para controle de qualidade nas diversas etapas do percurso das amostras; observação das variáveis pré-analíticas durante o manuseio das amostras; formas de registro, identificação e rastreabilidade das amostras; e treinamento da equipe de pesquisa.

O questionário aplicado aos Gestores dos Setores de Pesquisa apresentou questões sobre os seguintes temas: perfil do gestor; recursos humanos; programa de treinamento; plano de biossegurança; procedimento operacional padrão escrito para manipulação e guarda das amostras, bem como para controle de qualidade das amostras nos seus diversos percursos; procedimento operacional padrão escrito para identificação, registro e rastreabilidade das amostras; estrutura física das áreas aonde os Biorrepositórios são armazenados; plano de contingência; políticas de auditoria, tempo de manutenção de registros e transferência de material biológico.

Através das respostas obtidas com os questionários foi possível caracterizar os setores do HU-UFMA que guardam Biorrepositórios, quanto aos recursos humanos, estrutura física e padrões técnicos existentes. Além disso, foi possível: caracterizar o

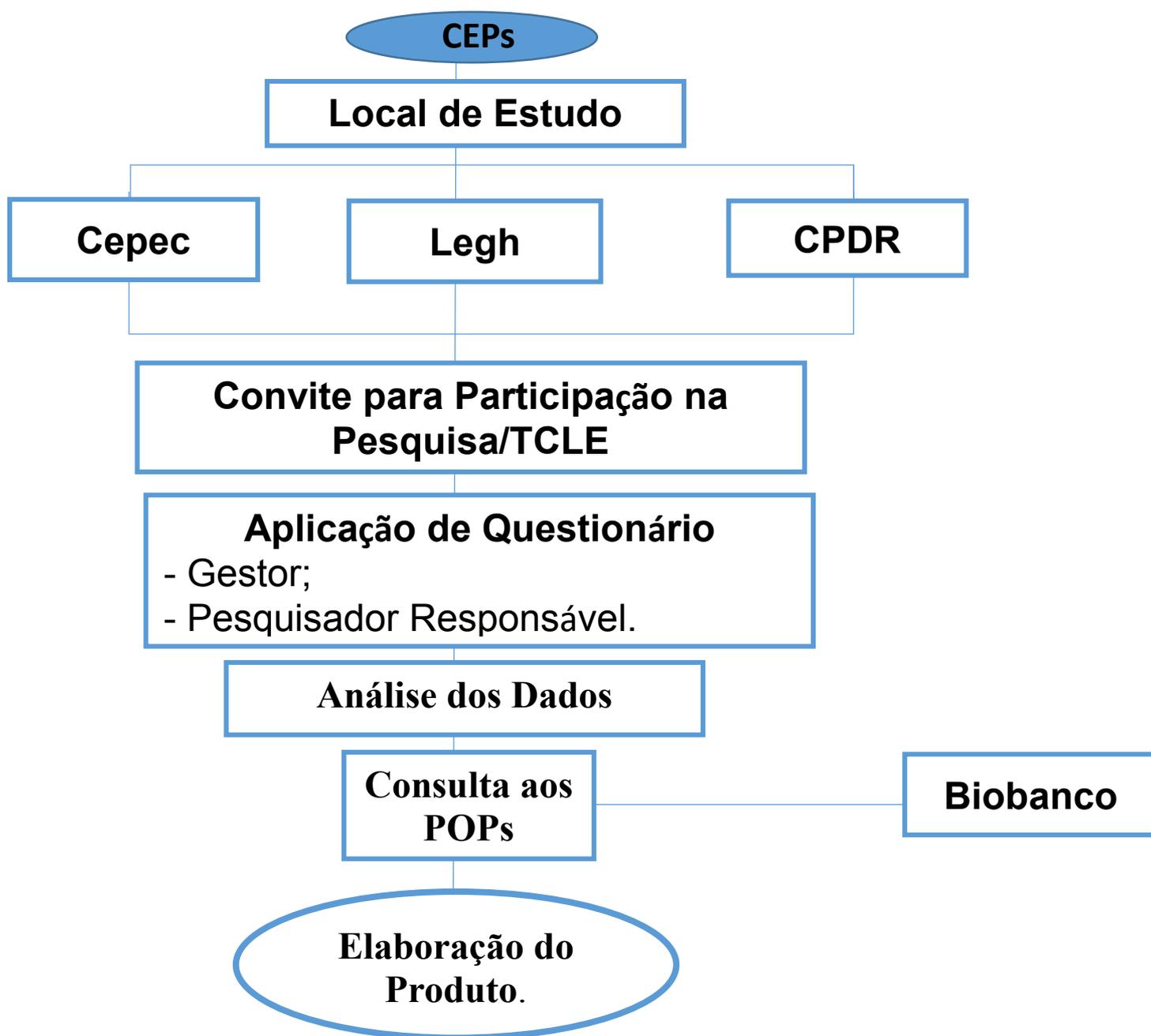
perfil dos gestores e dos pesquisadores responsáveis; descrever os tipos de material biológico armazenados em Biorrepositórios; identificar os procedimentos operacionais padrões existentes nos grupos de pesquisas para manipulação e guarda do material biológico que constituem os Biorrepositórios; e conhecer as formas de identificação, registro e rastreabilidade das amostras armazenadas para pesquisa na instituição.

- Análises dos dados

Os dados obtidos por meio dos questionários foram apresentados em tabelas, sendo realizada uma análise descritiva.

- Elaboração do Produto

Após a análise dos dados obtidos por meio dos questionários, identificaram-se os tipos de amostras biológicas utilizadas nas pesquisas e que compõem os Biorrepositórios armazenados na instituição. A partir daí, foi elaborado os Procedimentos Operacionais Padrões para coleta, processamento e guarda destas amostras biológicas utilizadas. Para a elaboração dos POP's foram consultadas as normativas nacionais e internacionais sobre o tema em questão. Além disso, foram consideradas as informações obtidas durante as visitas no setor de Biobanco do HU-UFMA sobre os métodos de coleta, preservação e guarda de material biológico neste setor; foram consultados, ainda, POP's para extração de ácidos nucléicos existentes em dois grupos de pesquisa; e POP's para coleta e processamento de amostra sanguínea para fins de assistência de um dos setores estudado. O objetivo destas consultas foi de adequar os POP's produzidos neste trabalho com os já existentes na instituição, ao mesmo tempo propor melhorias, como por exemplo, os formulários de anotações produzidos neste estudo com o propósito de serem utilizados em cada etapa de manuseio das amostras e que são apresentados como anexo em cada POP. Outra novidade presente nos documentos elaborados foi quanto à estruturação dos POP's, que aqui seguiu o formato do Manual de Padronização de POPs proposto pela EBSEH (2014). Mais detalhes sobre as normativas consultadas para elaboração do produto deste trabalho serão disponibilizados mais adiante, juntamente com a apresentação de cada documento.

Figura 4 - Fluxograma das etapas utilizadas para o desenvolvimento do trabalho.

6. RESULTADOS

6.1 Respostas obtidas através do questionário para o pesquisador responsável

6.1.1 Perfil dos Pesquisadores Responsáveis por Grupos de Pesquisa que Armazenam Biorrepositórios no HU-UFMA

Os sete pesquisadores responsáveis pelos grupos de pesquisas que armazenam Biorrepositórios no HU-UFMA, retornaram os questionários respondidos. Os resultados serão apresentados a seguir na forma de texto e/ou tabela.

Como descrito na tabela 1, a maior parte dos pesquisadores responsáveis tem título de doutor, e quanto à formação, predominam biólogos, seguidos por médicos e a maior parte é vinculada à EBSEH. A idade dos pesquisadores varia entre 32 e 44 anos e o tempo de trabalho na atual função, entre 18 e 48 meses. Quanto ao financiamento de pesquisa, quatro pesquisadores contam com auxílio FAPEMA, um do CNPq e dois com recursos da FAPEMA e indústria farmacêutica.

Observa-se que um mesmo pesquisador coordena, às vezes, mais de um grupo de pesquisa, exemplo, dois dos pesquisadores citados desenvolve projetos tanto com recursos da FAPEMA como de indústria farmacêutica.

Tabela 1 – Características dos pesquisadores responsáveis por grupos de pesquisa que armazenam Biorrepositórios no HU-UFMA.

Variáveis	Características	Quantitativo
Formação	Médico	02
	Biólogo	03
	Médico Veterinário	01
	Enfermeiro	01
Titulação	Doutor	05
	Mestre	02
Área da maior titulação	Ciências da Saúde	02
	Anestesiologia	01
	Patologia	01
	Biotecnologia	02
	Saúde Coletiva	01
Cargo/Função	Médico nefrologista	01
	Chefe do Setor de Pesquisa	01
	Biologo	02
	Professor	01
	Aluno de Pós-Doutorado e Pesquisador	01
	Coordenador de Pesquisa Clínica	01
Vínculo institucional	EBSERH	04
	UFMA E EBSERH	01
	UFMA	02
Área de pesquisa	Diagnóstico da DRC e suas complicações	01
	Anestesiologia	01
	Imunologia e Biologia molecular	01
	Biologia Molecular	03
	Cardiologia, Endocrinologia e Hepatologia.	01
Financiamentos	Fapema	04
	Fapema e Indústria Farmacêutica	02
	CNPQ	01

6.1.2 Tipos de material biológico que constituem os Biorrepositórios armazenados no HU-UFMA e atendimento às exigências éticas

Para coleta de material biológico, todos os grupos aplicam o TCLE aprovado pelo CEP. Os tipos de materiais biológicos armazenados podem ser vistos na Tabela 2, sendo que o Buffy-Coat é armazenado por seis dos sete grupos de pesquisa. Observa-se que um mesmo pesquisador responsável trabalha com pesquisas diferenciadas (mais de um projeto de pesquisa) que utilizam diferentes tipos de materiais biológicos. Todos utilizam freezer de um dos setores de pesquisa e dois

grupos também armazenam material biológico em freezers da assistência em outros setores da instituição.

Tabela 2 – Tipo de material biológico armazenado como Biorrepositório, local de armazenagem por grupo de pesquisa e aspectos éticos.

Variáveis	Características	Quantitativo de grupos de pesquisas que utilizam
Material Biológico Armazenado	Tecido sólido	3
	Buffy-Coat	6
	Soro	3
	Plasma	2
	Ácido nucléico	3
	Célula	1
Local de armazenamento	Freezer do setor de pesquisa	7
	Freezer da assistência	2
Aspectos Éticos	Aprovação do CEP	7
	TCLE	7

6.1.3 Controle de Qualidade

A existência de POP's é mais frequente nos processos de coleta, processamento e armazenamento das amostras, sendo utilizados por aproximadamente 70% dos grupos (Tabela 3). Dois pesquisadores informaram a existência de critérios para definir não conformidades nas diversas etapas do manuseio das amostras, dois não souberam informar e três relataram inexistência de critérios.

A observância da qualidade das amostras é heterogênea considerando-se as variáveis pré-analíticas (Tabela 4). Observa-se maior cuidado em relação ao volume de material coletado para evitar ciclos de congelamento-descongelamento adicionais das amostras e à seleção dos tubos de coleta adequados aos objetivos do estudo (06 pesquisadores responderam sim para estes quesitos). Para o item que questiona sobre a realização de testes de QC para avaliar a pré-análise das amostras biológicas, respostas obtidas através dos questionários demonstraram que para o Controle de Qualidade são utilizados os Controles Positivos (PC) e Controles Negativos (CN) para minimizar potenciais erros técnicos, detectar contaminação na amostra e resultados falsos negativos e falsos positivos, além disso, durante a técnica, é inserida uma amostra de resultado conhecido e confiável para verificar a viabilidade do material biológico coletado.

Tabela 3 – Utilização de POP'S para controle de Qualidade nos procedimentos de coleta, processamento, armazenamento, identificação, rotulagem e critérios de não conformidades no manuseio das amostras dos Biorrepositórios do HU-UFMA.

Variáveis	Sim	Não	Não sei responder
Processos utilizados na coleta	5	2	0
Processamento das amostras	5	2	0
Armazenamento das amostras	5	2	0
Registro e identificação das amostras	4	3	0
Rotulagem das amostras	4	3	0
Destruição e descarte das amostras	3	4	0
Critérios para definir as não conformidades nas diversas etapas de manuseio das amostras	2	3	2

Tabela 4 – Avaliação pré-analítica das amostras e relato de não conformidades dos Biorrepositórios do HU-UFMA.

Variáveis	Sim	Não	Não Responder	Sei
Os tamanhos de alíquota são selecionados de acordo com a necessidade de evitar ciclos de congelamento-descongelamento adicionais?	6	1		0
Os tamanhos de alíquota são selecionados de acordo com a necessidade de equilibrar os requisitos de armazenamento e os custos?	5	2		0
O frasco para armazenamento das amostras foi testado para ter certeza de que ele vai funcionar como esperado em todas as condições ambientais projetadas?	4	3		0
O Rótulo contido no frasco foi testado para ter certeza de que ele vai funcionar como esperado em todas as condições ambientais projetadas?	3	3		1
Os tubos para coleta são escolhidos levando-se em conta o objetivo da pesquisa?	6	0		1
Você realiza testes de QC (Controle de Qualidade) para avaliar a pré-análise das amostras biológicas?	2	4		1
Você relata adequadamente as não conformidades pré-analíticas referentes à manipulação das amostras, de modo que sejam rastreadas futuramente?	5	2		0

6.1.4 Recursos humanos e treinamento dos grupos de pesquisas

As respostas aos questionários (Tabela 5) demonstraram que os grupos de pesquisa são heterogêneos quanto à atribuição de um responsável por atividades específicas de armazenamento de amostras em Biorrepositório, e que cerca de dois terços dos grupos contém um programa de treinamento sobre as técnicas utilizadas na pesquisa com todo o grupo de pesquisa.

Tabela 5 – Funções designadas para membros das equipes de pesquisa quanto à organização dos Biorrepositório e atividades de treinamento realizadas.

Variáveis	Sim	Não	Não Sei Responder
Membro designado para registrar as informações sobre o material biológico a ser coletado e sobre o participante da pesquisa*.	5	2	0
Membro designado para acompanhar a coleta, processamento das amostras e realização dos testes*.	2	3	2
Membro designado para assegurar a rastreabilidade das amostras e dos documentos que as acompanham em todo o seu percurso, até completar o registro dos exames laboratoriais*.	4	3	0
Programa de treinamento sobre as técnicas utilizadas na pesquisa.	4	3	0
Programa de treinamento sobre biossegurança.	5	2	0
Programa de treinamento sobre as políticas internas do laboratório	3	3	1

Nota:

* A alternativa “Não” para estes itens, significa dizer “Qualquer membro da equipe está apto a executar esta tarefa”.

6.1.5 Registro, identificação e rastreabilidade das amostras

O tópico sobre rastreabilidade das amostras (Tabela 6) demonstra que a maioria dos eventos pré-analíticos das amostras são rastreáveis pelos grupos de pesquisas, embora não sejam preenchidos todos os requisitos de rastreabilidade para os eventos questionados.

Tabela 6 – Eventos rastreáveis durante a guarda dos Biorrepositórios.

Variáveis	Sim	Não	Não Sei Responder
Tipo de frasco	5	1	1
Volume	3	3	1
Tipo de espécime	7	0	0
Método de coleta	4	2	1
Data e hora da coleta	6	0	1
Data e hora do processamento	3	3	1
Tipo de armazenagem	5	1	1
Temperatura de armazenagem	6	0	1

O tópico sobre registro, identificação e rotulagem de recipientes (Tabela 7) evidenciou que as amostras armazenadas recebem um número identificador único (ID) e que as etiquetas são geradas por computador para a maioria dos grupos; apenas dois grupos geram etiquetas em manuscrito para identificação e rotulagem

das amostras. Embora seja um número pequeno, há a necessidade de padronização destas etapas seguindo as boas práticas recomendadas, para minimizar as potenciais falhas durante as pesquisas e, conseqüentemente, nos resultados dos testes realizados.

Tabela 7 – Formas de identificação e rotulagem dos recipientes contendo as amostras.

Variáveis	Sim	Não	Não Sei Responder
Cada amostra recebe um Número de Identificação Único (ID)	6	0	1
O ID da amostra ou um código ligado a ID é identificação no frasco	6	1	0
A etiqueta é gerada em código de barras	1	5	1
A etiqueta é gerada em manuscrito	2	0	0
A etiqueta é gerada por computador	5	0	0

6.1.6 Equipamentos de armazenagem

O levantamento sobre os tipos de equipamentos utilizados na armazenagem indicou que 06 Grupos de Pesquisas utilizam Freezer -80°C; 04 utilizam o Freezer -20°C e 01 utiliza Refrigerador.

6.1.7 Coleta, processamento e armazenamento de amostras

No tópico sobre POP's escritos para sinalizar não conformidades e rejeitar amostras na fase de Coleta, Processamento e Armazenamento (Tabela 8) dois pesquisadores responderam que tem POP para quando o atraso entre a coleta de amostra e o início do processamento é muito longo. Quatro grupos relataram existência de POP para o caso de ocorrer identificação incorreta durante a coleta ou processamento ou quando ocorrer um erro de processamento e três para quando as amostras congeladas forem inadvertidamente descongeladas. Observa-se, portanto, a necessidade de elaboração de tais POP's, e posterior adesão por parte dos pesquisadores, de modo que alcance a totalidade dos grupos de pesquisas existentes.

Tabela 8 – Identificação dos POP's existentes para sinalizar não conformidades e rejeitar amostras dos Biorrepositórios.

Variáveis	Sim	Não	Não Sei Responder
Quando o atraso entre a coleta de amostra e o início do processamento é muito longo	2	4	1
Quando ocorreu a identificação errada durante a coleta ou processamento	4	3	0
Quando ocorreu um erro de processamento	4	3	0
Amostras congeladas quando forem inadvertidamente descongeladas	3	4	0

6.1.8 Transporte de amostras

Dois pesquisadores disseram não realizar o transporte de material biológico humano para pesquisa. Cinco pesquisadores responderam que realizam o transporte de material biológico, e que atendem às normas da ANVISA para esta atividade específica.

6.2 Respostas Obtidas Através do Questionário para o Gestor dos Setores de Pesquisa

6.2.1 Perfil dos gestores dos setores de pesquisas do HU-UFMA

Os três gestores dos setores de pesquisas que contém Biorrepositórios armazenados, retornaram os questionários respondidos. Os resultados serão apresentados a seguir na forma de texto e/ou tabela.

Através dos registros apresentados na Tabela 9, dois dos gestores tem título de doutor, um não realiza pesquisa, dois são enfermeiros e predominam profissionais com vínculo com a UFMA. As áreas de atuação na pesquisa são: Cardiologia, Endocrinologia, Anestesiologia, Imunogenética e Imunobiologia dos Transplantes.

Tabela 9 – Características dos gestores dos setores de pesquisas do HU-UFMA.

Variáveis	Características	Quantitativo
Formação	Enfermeiro	2
	Biólogo	1
Titulação	Doutorado	2
	Mestrado	1
Área da maior titulação	Saúde do adulto	1
	Biotecnologia	1
	Enfermagem	1
Vínculo institucional	EBSERH	1
	UFMA	2
Realiza Pesquisa	Sim	2
	Não	1
Área de Pesquisa	Cardiologia	1
	Endocrinologia	1
	Anestesiologia	1
	Imunogenética	1
	Imunobiologia dos Transplantes	1

6.2.2 Recursos humanos nos setores de pesquisa do HU-UFMA

Observou-se que um dos setores (setor 1) conta com equipe multiprofissional composta por assistente administrativo, técnico de enfermagem, enfermeiros e farmacêutico, dedicada integralmente às atividades das pesquisas, dentre elas, organização dos Biorrepositórios; enquanto nos setores 2 e 3, todos os profissionais, (biólogos, técnicos de laboratório e farmacêuticos) que realizam pesquisa atuam também na assistência.

No item que buscou identificar as titulações de pós-graduação existentes entre estes profissionais, identificou-se 02 doutores, 04 mestres e 08 especialistas distribuídos nestes três setores. Vale esclarecer que esta descrição não contempla todos os pesquisadores inseridos nos grupos de pesquisas, mas sim, os profissionais pertencentes ao quadro de funcionários dos setores e que atuam nas atividades de pesquisas e gerenciamento e guarda dos biorrepositórios.

Quanto ao vínculo institucional, os resultados demonstraram que a maioria destes profissionais são vinculados à EBSEH; foi encontrado também profissionais em vínculo com a UFMA e com o Ministério da Saúde.

Na tabela 10 observa-se que um dos setores (setor 1) possui funcionário com atribuições específicas para as tarefas de registro, processamento, rastreabilidade das amostras e documentos que as acompanham referentes aos Biorrepositórios armazenados. Igualmente, este evento é verificado no setor 3; já o setor 2 não tem profissional (is) designado (s) para tais atribuições, quem desempenha estas tarefas são os pesquisadores pertencentes aos grupos de pesquisas, podendo fazer parte ou não, ao quadro dos profissionais.

Tabela 10 – Setores de pesquisa do HU-UFMA que possuem funcionários com atribuições específicas para atividades relacionadas aos Biorrepositórios, e suas informações associadas.

Variáveis	Setor 1	Setor 2	Setor 3
Existe um membro designado para registrar as informações sobre o material biológico coletado.	Sim	Não	Sim
Existe um membro designado para acompanhar o processamento, armazenamento das amostras e realização dos testes.	Sim	Não	Sim
Existe um membro designado para assegurar a rastreabilidade das amostras e dos documentos que as acompanham em todo o seu percurso.	Sim	Não	Sim

6.2.3 Treinamento e Biossegurança

Para este tópico, a Tabela 11 demonstrou que os setores de pesquisa não possuem programas de treinamento. Porém, eventualmente, os setores realizam treinamento com os pesquisadores e profissionais que atuam também na pesquisa e, em um dos setores, quando realizado um treinamento é feito registro por escrito, incluindo a assinatura do funcionário, bem como do responsável por conduzir o treinamento.

Tabela 11 – Itens contemplados pelo programa de treinamento, quando existentes, nos Setores de pesquisa do HU-UFMA que contém Biorrepositórios armazenados.

Variáveis	Setor 1	Setor 2	Setor 3
O Setor possui um Coordenador de treinamento.	Não	Não	Não
Uma vez completado, é feito um registro escrito do treinamento, incluindo a assinatura do funcionário, bem como a assinatura do treinador.	Sim	Não	Não
É mantido um arquivo de treinamento para cada funcionário incluindo, dentre outros, descrição do cargo, currículo, cópia de certificado e documentação de resultados analíticos obtidos para demonstrar proficiência em tarefas técnicas especificadas.	Não	Não	Não
O Setor possui um programa de treinamento.	Não	Não	Não

Todos os três setores de pesquisa possuem plano de biossegurança para prevenir ou minimizar lesões aos funcionários.

6.2.4 Gestão de Qualidade

Os resultados aos questionários apontaram que os setores de pesquisa não possuem protocolo de gestão de qualidade com seus respectivos POP's para organização e controle dos Biorrepositórios armazenados; sendo que dois deles estão desenvolvendo seu protocolo de gestão. Observou-se, ainda, que não existe fluxograma para a guarda e controle dos Biorrepositórios armazenados nos Setores de Pesquisa do HUUFMA, sendo que um dos gestores informou que o fluxograma está em desenvolvimento no seu setor.

Quando questionado sobre a existência de POP's para as atividades desenvolvidas durante a manipulação dos Biorrepositórios armazenados, um dos setores afirmou conter os POP's, os quais estão descritos na Tabela 12.

Tabela 12 – Levantamento dos POP's existentes para as atividades desenvolvidas durante a manipulação das amostras armazenadas como Biorrepositórios nos Setores de pesquisa do HU-UFMA.

POP's	Setor 1	Setor 2	Setor 3
Pop para definir condições pré-analíticas padrão	Sim	Não	Não
Pop para definir as não conformidades referentes à manipulação das amostras em todas as suas etapas	Não	Não	Não
Pop para práticas de envio e recebimento de amostras, quando for o caso.	Sim	Não	Não
Pop para práticas de gerenciamento de registros de amostras e informações associadas	Sim	Não	Não

6.2.5 Instalações e Segurança

Identificou-se que um dos setores de pesquisa possui instalações com espaço suficiente para abrigar a coleção atual, bem como para acomodar o crescimento das coleções de amostras biológicas. Por outro lado, os três setores necessitam adequar a circulação de ar suficientemente, para entrada de ar frio e saída de ar quente com exaustor. A tabela 13 demonstra as adequações nos setores estudados, quanto a outros requisitos de instalações exigíveis para áreas de armazenamento de material biológico.

Tabela 13 – Infraestrutura das áreas de armazenamento dos Biorrepositórios.

Variáveis	Setor 1	Setor 2	Setor 3
As instalações têm espaço suficiente para abrigar a coleção atual, bem como projeções de sustentabilidade para acomodar o crescimento dos Biorrepositórios.	Não	Não	Sim
A área aonde o equipamento de armazenamento de amostras é mantido contém limites específicos para a temperatura do ar ambiente.	Sim	Não	Sim
A área dos Biorrepositórios contém circulação de ar suficiente, com entrada de ar frio e saída de ar quente com exaustor, para evitar a acumulação de excesso de calor e umidade.	Não	Não	Não
Os cabos elétricos e tomadas do local estão instalados adequadamente.	Sim	Não	Sim
Cada equipamento de armazenamento de amostra tem seu identificador exclusivo e tem uma convenção estabelecida para numerar prateleiras, racks, caixas, bem como cada local dentro do recipiente, conforme necessário.	Não	Não	Sim
A iluminação da área de armazenamento de Biorrepositório é adequada para fornecer um ambiente de trabalho seguro e permitir que os materiais sejam cuidadosamente guardados e recuperados.	Sim	Não	Sim
Existe iluminação de emergência, em caso de perda de energia.	Sim	Não	Sim
A área tem como finalidade exclusiva o armazenamento de Biorrepositórios.	Sim	Não	Não

Quanto ao tópico Plano de Contingência, foi identificado através dos questionários que um dos setores possui plano de contingenciamento para atender a todas as emergências ou riscos referentes ao armazenamento das amostras; bem como o voltado à prevenção de incêndio, com alarme e extintores de incêndio.

Em dois dos três setores que contém Biorrepositórios armazenados, existe notificação do sistema de monitoramento para detectar desvios em relação às temperaturas normais de operação, com abrangência local (somente no setor) e em um deles, não há notificação.

Em relação ao levantamento de informações sobre Sistema de Armazenamento Backup, em caso de falha no equipamento de armazenagem de material biológico nos Setores que contém Biorrepositórios armazenados no HUUFMA um gestor informou que o Setor possui até 10% de capacidade de armazenamento de back-up para espécimes armazenados em freezers mecânicos e refrigeradores; sendo que para os outros dois, os setores não possuem freezer backup.

Todas as unidades de armazenamento de amostras têm como fonte de suprimento de energia, o gerador de energia a motor caso a energia elétrica seja

interrompida. Suprimento de energia de emergência através de CO₂ ou de N₂ não foi encontrado para os três setores.

Para o item política e procedimento de acesso às amostras, um dos gestores afirmou existir no seu setor (setor 1), políticas e procedimentos que definem quem pode acessar as amostras e/ou dados associados, sendo que para o controle de acesso à área de armazenamento de amostras, a porta dispõe de fechadura mecânica, além disso, câmara de monitoramento está instalada no local. Embora nos outros dois setores não estejam presentes documentos escritos com política e procedimento de acesso, em um deles, a porta contém fechadura mecânica que controla o acesso à área de armazenagem de material biológico, sendo que para o outro, não há controle de acesso.

6.2.6 Equipamentos de Armazenagem

Para o tópico equipamentos de armazenagem presentes nas áreas de armazenamento dos Biorrepositórios nos setores de pesquisa, os três Gestores afirmaram que os setores possuem freezer mecânico -80°C; dois setores possuem freezer mecânico -20°C e refrigerador; um setor possui contêiner de nitrogênio líquido (LN₂) para armazenamento de material biológico.

6.2.7 Coleta, processamento, identificação, registro e rastreabilidade de amostras.

Observa-se a presença de alguns POP's para padronização de procedimentos durante as etapas de manuseio, controle e registro das amostras para dois dos três setores que contém Biorrepositórios armazenados. Os POP's presentes, bem como os que faltam, estão descritos na Tabela 14.

Tabela 14 – POP's utilizados durante o manuseio de amostras nos setores de pesquisa do HU-UFMA e que contém Biorrepositórios armazenados.

Variáveis	Setor 1	Setor 2	Setor 3
POP de coleta de amostras	Sim	Não	Sim
POP de processamento de amostras	Sim	Não	Sim
POP de armazenamento de amostras	Sim	Não	Sim
POP para rastrear excursões de temperatura durante o armazenamento	Não	Não	Sim
POP para identificação e registro das amostras e informações associadas	Sim	Não	Não
POP para práticas de recuperação de amostras	Não	Não	Não
POP para destruição e descarte de material biológico	Sim	Não	Sim

Quando questionado sobre o sistema de inventários para rastrear eventos relacionados às variáveis pré-analíticas das amostras e seu gerenciamento e guarda, verifica-se que não há sistema de inventário que rastreia a localização e o status de amostras armazenadas em Biorrepositórios nos setores de pesquisa do HU-UFMA, porém um dos setores (setor 1) está desenvolvendo um sistema para estes eventos. Outros eventos rastreáveis ou não, pelos setores, estão descritos na Tabela 15.

Tabela 15 – Eventos rastreáveis quanto às variáveis pré-analíticas, registro, perda e descarte de amostras armazenadas nos Setores de pesquisa do HU-UFMA e que contém Biorrepositórios armazenados.

Variáveis	Setor 1	Setor 2	Setor 3
Tipo de frasco	Não	Não	Não
Volume	Não	Não	Não
Data e hora da coleta	Não	Não	Não
Método de coleta	Não	Não	Sim
Local de coleta	Não	Não	Sim
Data e hora do processamento	Não	Não	Não
Ciclos de congelamento / descongelamento	Não	Não	Não sei responder
Temperatura de armazenamento	Sim	Não	Sim
Perda	Sim	Não	Sim
Descarte	Sim	Não	Sim

Os resultados demonstraram que em dois setores, os computadores contendo registros das amostras armazenadas são protegidos por senha; existem níveis de permissão para acessar os registros eletrônicos entre funcionários em diferentes níveis operacionais e para usuários que não são funcionários do Setor de Pesquisa; e os registros de computador com as informações de amostras biológicas e/ou de pesquisa contém um segundo HD ou outra forma de backup. O terceiro setor, não possui registros eletrônicos para os Biorrepositórios armazenados.

6.2.8 Políticas de auditoria, tempo de manutenção de registros e transferência de material biológico.

Para este tópico, dois dos três gestores afirmaram que, em caso de auditoria, os registros dos setores estão prontamente acessíveis para inspeção por pessoal autorizado e que existe política em vigor que regula o período de tempo que os registros são mantidos.

A seguir, transcrevo alguns dos comentários dos pesquisadores (que estão aqui denominados de Pesquisador 1, 2 e 3) referentes à elaboração de POP's para a guarda dos Biorrepositórios:

- Pesquisador 1: “A elaboração de procedimentos é importante para padronização do processo dentro da instituição e controlar a qualidade das amostras armazenadas. Além disso, norteará os pesquisadores na organização de novos biorrepositórios”.
- Pesquisador 2: “Seria um procedimento útil para uso e manipulação das amostras de maneira racional e adequada”.
- Pesquisador 3: “Considerando que o Ministério da Saúde, através da portaria nº 2.201/, estabelece as diretrizes nacionais para biorrepositório e biobanco de material humano com finalidade de pesquisa, a criação de protocolo com essa finalidade no HU-UFMA é de suma importância para que todas as disposições da portaria sejam atendidas, garantindo a qualidade da pesquisa e os direitos dos sujeitos”.

Os comentários que seguem foram deixados pelos gestores (que aqui são denominados de Gestor 1, 2 e 3) que responderam ao questionário:

- Gestor 1: “É de extrema importância uma padronização de normas referentes à coleta, transporte, processamento, identificação, armazenamento e descarte de amostras de acordo com o regulamento sanitário da ANVISA. Pois, após as pesquisas, faz-se necessário manter contato com os pesquisadores para saber por quanto tempo as amostras deverão ficar armazenadas e se o descarte poderá ser feito pela própria instituição, pois às vezes os pesquisadores abandonam as amostras na instituição”.
- Gestor 2: “Consideramos importante, pois contribuirá na organização / padronização dos biorrepositórios de acordo com as resoluções vigentes”.
- Gestor 3: “Para que haja a padronização de protocolo, algumas etapas precisam ser executadas, como: 1) alocação de profissional capacitado para regular o funcionamento; 2) educação/formação continuada/treinamento para equipe de pesquisadores e; 3) subsídios de infra-estrutura e recursos financeiros direcionados para finalidade em questão”.

6.3 Procedimentos Operacionais Padrões Utilizados no Biobanco Institucional

Através da visita ao Biobanco institucional foram identificados os seguintes POPs para guarda dos materiais biológicos armazenados: O indivíduo com critérios elegíveis é convidado para participar da pesquisa. Uma vez consentido a sua participação através do TCLE, o indivíduo responde a um questionário epidemiológico. Posteriormente, no momento do procedimento (biópsia ou cirurgia) é retirado duas amostras do tecido do participante em duplicata (02 amostras de tecido sadio e duas amostras de tecido doente). De cada amostra são separados 04 fragmentos, 02 destes fragmentos serão preservados em RNAlater para exames de Biologia Molecular e 02 são congelados em NL₂ para exames histopatológicos (2 de tecido sadio e 2 dois de tecido doente).

Os tecidos reservados para testes moleculares não são congelados até a imersão em RNAlater. Uma vez colocado nesta substância (em quantidade de 5 a 10 vezes o volume da amostra) os fragmentos são armazenados em 4°C durante 24 horas para permitir que a solução de RNAlater penetre no tecido. Após esse período é removido o sobrenadante do recipiente contendo o material biológico, em seguida o mesmo é armazenado em -80°C a longo prazo.

Os fragmentos de tecidos para exames histopatológicos são imersos, com o auxílio de uma pinça, em tanques de Nitrogênio Líquido para o congelamento rápido. Em seguida esses fragmentos são armazenados em longo prazo, ou no congelador -80°C ou no tanque de NL₂.

7. PRODUTOS DA DISSERTAÇÃO

A presente Dissertação gerou os seguintes produtos (APÊNDICE C): 1 Manual; 4 POPs; e 7 formulários. Estes dois últimos itens estão apresentados como apêndices do primeiro.

7.1 Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios

A estrutura deste manual seguiu o modelo de Manual da Qualidade disponível no site EBSEH, e elaborado pelo HC/UFTM filiado à Rede EBSEH. Já para a elaboração deste documento, além de consulta a artigos e relatórios sobre o tema,

houve o embasamento nas seguintes referências normativas, as quais encontram integralmente descritas ao final do manual elaborado:

- **Nacionais** – Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR ISO 9000:2005; RDC ANVISA nº 33/2006; RDC ANVISA nº 56/2010; RDC ANVISA nº 306/2006; RDC ANVISA nº 09/2011; RDC ANVISA nº 55/2015; Portaria MS nº 2.201/2011; Norma Regulamentadora 32 MTE/2011; Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML).
- **Internacionais** – CLSI/NCCLS/2003; ISBER/2012; OMS/2005; WHO-IARC.

7.2 Procedimentos Operacionais Padrão (POPs)

7.2.1 Procedimento Operacional Padrão Geral para coleta de sangue nos setores de pesquisas do HU-UFMA (APÊNDICE A da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios).

7.2.2 Procedimento Operacional Padrão Geral para processamento e armazenamento de amostra de sangue (APÊNDICE B da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios).

7.2.3 Procedimento Operacional Padrão com instruções gerais para extração e armazenamento de Ácidos Nucléicos: DNA e RNA (APÊNDICE C da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios).

7.2.4 Procedimento Operacional Padrão para coleta, processamento e armazenamento de amostra de tecido obtida a partir de peça cirúrgica e de biópsia para utilização em pesquisas do HU-UFMA (APÊNDICE D da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios).

Os POPs supracitados foram construídos tendo como referencial as práticas recomendadas pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial; Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (CLSI/ NCCLS); e Instituto Internacional para Repositórios Biológicos e Ambientais ISBER, e sempre embasados nas diretrizes e normativas nacionais.

Além destas, foram consideradas ainda, as informações obtidas durante as visitas no setor de Biobanco do HU-UFMA sobre os métodos de coleta, preservação

e guarda de material biológico neste setor, além de consultas aos POP's para extração de ácidos nucléicos existentes em dois grupos de pesquisa; e nos POP's para coleta e processamento de amostra sanguínea para fins de assistência de um dos setores estudado. O objetivo dessas consultas foi para eventuais adequações dos POP's elaborados aos métodos utilizados pelos grupos de pesquisas e na rotina do hospital, bem como para propor melhorias buscando um maior controle das variáveis pré-analíticas durante a manipulação e guarda dos Biorrepositórios utilizados.

A estrutura do manual de padronização de POPs da EBSE RH foi a utilizada para organização dos POPs elaborados nesse trabalho. O manual estabelece a seguinte estrutura:

- ELEMENTOS PRÉ-TEXTUAIS:
 - ✓ Capa;
 - ✓ Folha de rosto, direitos e expediente;
 - ✓ Histórico de revisões;
 - ✓ Sumário;
 - ✓ Objetivo;
 - ✓ Documentos relacionados;
 - ✓ Glossário;
 - ✓ Aplicação;
 - ✓ Lista de figuras;
 - ✓ Lista de quadros;
- PROCEDIMENTO
 - ✓ Informações gerais;
 - ✓ Descrição das tarefas;
- ELEMENTOS PÓS TEXTUAIS
 - ✓ Mapeamento;
 - ✓ Referências.

Quanto ao texto, a fonte utilizada é Times New Roman, tamanho 12. O título deve vir em negrito e caixa alta. O espaçamento entre linhas será de 1,5 cm e o espaçamento entre parágrafos, deverá ser pulado uma linha.

Os Procedimentos Operacionais Padrão construídos neste trabalho não constam os seguintes elementos pré-textuais estabelecidos pelo manual de POP's EBSE RH: capa, folha de rosto, direitos e expedientes. Não consta ainda, a tabela de

controle do POP inserida no rodapé contendo as informações sobre número de controle do POP, processo que está sendo organizada, versão do documento e numeração da página. Porém, no caso destes Procedimentos virem a ser utilizado pelo HU-UFMA, ou por qualquer outro hospital universitário filiado à Rede EBSEH, tais elementos deverão ser acrescentados.

7.3 Modelos de Formulários de Registros de Informações visando à sua utilização nas etapas de coleta, processamento e armazenamento do material biológico usado nas pesquisas

Foram elaborados cinco tipos de formulário referentes às etapas de coleta, processamento e armazenamento para cada tipo de material biológico colecionados em Biorrepositórios do HU-UFMA, quais seja:

7.3.1 Modelo de formulário para registro de coleta de sangue (APÊNDICE E da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios).

7.3.2 Modelo de formulário para registro de processamento e armazenamento de amostras sanguíneas (APÊNDICE F da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios).

7.3.3 Modelo de formulário para registro de extração e armazenamento de Ácidos Nucléicos: DNA e RNA (APÊNDICE G da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios).

7.3.4 Modelo de formulário para registro de coleta de amostras de tecido (APÊNDICE H da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios).

7.3.5 Modelo de formulário de registro de transporte, processamento e armazenamento de amostra de tecido (APÊNDICE I da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios).

Para o desenvolvimento dos modelos de formulários propostos foram consultadas as seguintes normativas: Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) /2010 e 2014; CLSI/NCCLS/2003; ISBER/2012; OMS/2005; e WHO-IARC/2007 e 2017.

Na prática, quase não se tem registros das variáveis pré-analíticas referentes à manipulação do material biológico utilizado nas pesquisas, o que pode tornar o resultado dos estudos frágeis. O modelo destes formulários elaborados propõe o registro fiel de tais variáveis. Espera-se que tais documentos possam ser incorporados pelo HU-UFMA, ficando disponível para aos pesquisadores da instituição para que sejam preenchidos com rigor durante as etapas de coleta, processamento e armazenamento do material biológico usado nas pesquisas. Esta ação permite um maior controle e rastreabilidade das variáveis pré-analíticas durante o manuseio das amostras. Consequentemente, gera informações que poderá ser útil durante a análise dos resultados das pesquisas. Orienta-se que, caso estes formulários venham a serem utilizados pelos pesquisadores, após o preenchimento os mesmos devem ser entregues para membro do grupo de pesquisa autorizado pelo pesquisador responsável para o recebimento e guarda destes formulários. O Quadro 3 apresenta com mais detalhes as etapas em que estes formulários poderão ser utilizados.

7.4 Modelo de formulário, visando à criação do Sistema de Cadastro do Participante da Pesquisa e geração do ID (identificador único) do participante

O HU-UFMA tem a pretensão de informatizar os registros de informações referentes à pesquisa, ao participante da pesquisa e às amostras coletadas e armazenadas. Foi feita, inclusive, solicitação para o setor de Tecnologia da Informação para o desenvolvimento do cadastro. Entretanto, para que este setor atenda tal solicitação, foi exigido um modelo de cadastro das pesquisas com todas as informações necessárias que se deseja registrar. Entretanto, de acordo com as diretrizes vigentes, deve-se garantir a privacidade e confidencialidade do participante da pesquisa e de suas informações associadas, por isto, as informações referentes ao participante da pesquisa devem estar em campo separado, bem como as informações referentes às amostras coletadas e armazenadas. Neste contexto, foi desenvolvido um Modelo de formulário para cadastro do participante da pesquisa (APÊNDICE J da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios), integrando o Produto deste trabalho, o qual servirá também, para a geração do ID do participante. O modelo de cadastro da amostra será proposto mais adiante (APÊNDICE K do Manual) e deverá estar em um campo separado do registro das informações do participante.

Espera-se que este documento, possa servir de instrumento para a instituição no desenvolvimento do cadastro das pesquisas, especificamente para o registro das informações referentes ao participante da pesquisa. Para a elaboração deste Formulário foi consultado o modelo de “ficha cadastral de projetos” disponível online no site do HUUFMA¹, a qual é preenchida no formato impresso no momento da submissão dos projetos de pesquisas ao COMIC. Além desta, foram consultadas as normativas IARC (2007)² e SBPC (2010)³ com o intuito de levantar informações relevantes sobre o participante, as quais podem ser essenciais na análise dos resultados. O método apresentado para geração do ID do participante da pesquisa foi baseado no artigo publicado de Fedeli (2013) que explica sobre a geração do ID dos participantes do projeto ELSA (um estudo multicêntrico de coorte desenvolvido em três regiões do Brasil).

7.5 Modelo de formulário, visando a criação do Sistema de Cadastro de Amostra Biológica e geração do ID (Identificador Único) da amostra armazenada

Verificou-se através dos comentários presentes em campos específicos dos questionários para o pesquisador, que os métodos utilizados pelos grupos de pesquisas para identificação e rotulagem das amostras são bastante heterogêneos e não seguem um padrão institucional. Além disso, para alguns grupos, não se observou o fator privacidade e confidencialidade do participante da pesquisa, por exemplo, um dos pesquisadores responsável escreveu que “*O rótulo é feito em computador. Inclui nome do paciente, data da coleta e data de nascimento*”. Outro fez a seguinte afirmação “*Não criamos rótulos. Escrevemos nos tubos com lápis*”. Neste cenário, foi proposto método para geração do ID das amostras coletadas e armazenadas (APÊNDICE K da Proposta de Manual para Coleta, Processamento, Armazenamento e Descarte de Material Biológico Humano Visando à Constituição de Biorrepositórios), visando à utilização pelos pesquisadores do HU-UFMA. O método apresentado foi baseado no artigo científico de Betsou et al. (2010) que apresenta o modelo de identificação de amostras denominado SPREC - “Código Pré-Analítico Padrão” (do inglês “*Standard PREanalytical Code*”), desenvolvido por um grupo de trabalho do

¹ <http://www.ebserh.gov.br/web/hu-ufma/comic-comissao-cientifica>

² A referência completa está disponível no final da dissertação no item Referências.

³ A referência completa está disponível no final da dissertação no item Referências.

ISBER (Instituto Internacional para Repositórios Biológicos e Ambientais); e em informações contidas no Relatório de Estágio Supervisionado de Güttler (2016)¹, que na ocasião do estágio acompanhou a organização de dois tipos de Biorrepositórios no CEP (Centro de Pesquisa Clínica) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/HCPA. Os dois Biorrepositórios correspondem a dois estudos multicêntrico, desenvolvidos em mais de uma região do Brasil. Um deles diz respeito a um ensaio clínico, randomizado, que abrange as cidades de Porto Alegre/RS, Pelotas/RS e Fortaleza/CE. O segundo pertence a um estudo de coorte, composta por seis instituições públicas de ensino superior e pesquisa das regiões, Sul, Sudeste e Nordeste do Brasil. No que tange à identificação das amostras pertencentes a estes Biorrepositórios, Güttler (2016) descreveu da seguinte forma:

No momento em que o sujeito decide participar da pesquisa para a qual foi convidado (a), é realizado o seu cadastro por um membro da equipe treinado para tal, constando as informações do participante, com isso, eles recebem automaticamente um código de identificação (ID), que é único para cada sujeito e que fica em outro cadastro separado das informações a eles associadas. Os materiais biológicos obtidos para os dois projetos são encaminhados para exames, e alíquotas são armazenadas em Biorrepositório do hospital [...]. Uma vez coletado o material biológico dos (as) participantes dos estudos supracitados, os mesmos são encaminhados para processamento. Na sala de processamento, a técnica [...] anotou a hora de chegada das amostras e as colocou em um recipiente com gelo, em seguida preparou os criotubos para armazenamento das alíquotas [...]. Os tubos contendo o material biológico dos (as) participantes continham aproximadamente 04 mL, os quais foram centrifugados e posteriormente alíquotadas em 04 alíquotas de 01 mL para cada amostra, 03 destas alíquotas foram reservadas para coleção de Biorrepositório e guardadas no centro compartilhado de material biológico da instituição [Figura 21] e 01 alíquota foi encaminhada ao laboratório para realização de exames [...]. O horário de término do processamento foi anotado pela técnica e tanto as alíquotas dos Biorrepositórios como para os exames foram acondicionados em uma caixa térmica com gelo para transporte, para serem distribuídas no local de armazenamento dos Biorrepositórios e no laboratório, respectivamente. (GÜTTLER, 2016, p. 6).

Observa-se, portanto, que existe o cadastro do participante da pesquisa, constando as suas informações relevantes para o estudo, através do qual é gerado o ID do participante. O registro da amostra se dá em cadastro específico, separado do cadastro do participante, ocasião na qual é gerado o ID da amostra. Sobre este assunto, Güttler (2016) dá a seguinte explicação:

¹ GÜTTLER, M. C. S. Relatório Final de Estágio Supervisionado do Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, 29 p. Trabalho não publicado.

No que se refere à rotulação e registro do material biológico coletado, o procedimento ocorreu da seguinte forma: as amostras chegaram à sala de processamento do laboratório no Centro de Pesquisa Clínica/CPC, identificadas pelo ID do participante, sem nenhuma informação referente ao sujeito da pesquisa. Um sistema de computador, criado exclusivamente para gerenciar os projetos, geram automaticamente as etiquetas com o ID do participante que são coladas nos tubos para coletas. Em uma planilha em Excel, nos computadores do laboratório, a técnica registrou esses números contidos nas etiquetas de cada tubo para coleta, cabe destacar que estes computadores possuem dois discos de armazenamento, sendo um para backup. As etiquetas presentes no tubo de coleta foram reservadas. Em seguida foram geradas pelos computadores do laboratório, etiquetas contendo códigos de barras a serem coladas nos criotubos que iriam receber as alíquotas, tanto para os exames quanto para a bioteca (Biorrepositórios) e para o Controle de Qualidade. O código é uma sequência de números que corresponde, cada um, a alguma informação, como, o número do projeto, número diferenciado para tipos de tubo do laboratório, número específico para o participante e ordem da amostra, sendo que cada código é exclusivo para cada amostra. Essas etiquetas com os códigos de barra foram impressas em material adesivo, próprio para criogenia, e coladas nos criotubos. Cada código de barra foi associado ao número de identificação única de cada tubo registrado na planilha em Excel [Figura 22]. Com isso, é possível separar a identificação [desidentificação] das alíquotas armazenadas na bioteca, dos números de registros das amostras coletadas, e ao mesmo tempo garantir a sua localização quando necessário, bastando ler o código de barra presente no tubo. Quando quiser recuperar o ID da amostra originária, basta ler o código de barras presente no criotubo contendo a alíquota. É pertinente frisar que a leitura em código de barra permite localizar o cadastro das amostras, bem como a localização de suas alíquotas no equipamento de armazenagem e não as informações referentes ao participante da pesquisa, garantindo a privacidade e confidencialidade das informações associadas à amostra e ao participante de pesquisa. (GÜTTLER, 2016, p. 6).

Uma alternativa informatizada para a geração do ID é através do desenvolvimento de ferramentas (software) em Excel, ou outro programa. Informações gerais referentes ao participante ou à amostra, conforme o caso é inserido nesta ferramenta, e ela é capaz de gerar um código ID único para cada amostra e/ou participante baseados nas informações adicionadas. Exemplo de experiência com essa lógica, pode ser observado em Lehmann et al. (2012, p. 370), no qual é descrito o desenvolvimento de uma ferramenta pelo setor de TI, denominada SPRECalc. Uma lista de informações relacionadas com a temperatura e tempo (por exemplo, tempo de isquemia quente e fria, temperatura de armazenagem) das amostras relacionadas às amostras em gerais são inseridas no SPRECalc, formando uma espécie de banco de dados. Uma vez tendo inserido as informações específicas

de uma determinada amostra, esta ferramenta executa o cálculo automático dos elementos associados ao tempo e a geração do SPREC. Desta forma, os tubos de armazenagem são identificados com o código SPREC, ficando dissociado das informações referentes às amostras.

Quadro 3 – descrição das etapas em que cada formulário e POP deverão ser utilizados durante a manipulação.

FORMULÁRIOS PROPOSTOS	ETAPA DE PREENCHIMENTO	FINALIDADE	POP A SER UTILIZADO	RESPONSÁVEL PELO PREENCHIMENTO*
Formulário, visando à criação do Sistema de Cadastro do Participante da Pesquisa e geração do ID (identificador único) do participante.	Quando o participante consentir através do TCLE	Cadastrar o participante e gerar o seu ID	***	Membro do grupo de pesquisa com autorização e treinamento para tal finalidade
Modelo de formulário, visando a criação do Sistema de Cadastro de Amostra Biológica e geração do ID (Identificador Único) da amostra armazenada.	Após a coleta do material biológico	Cadastrar a amostra e dissociar o ID do Participante da Pesquisa do ID da amostra que será armazenada	***	Membro do grupo de pesquisa com autorização e treinamento para tal finalidade
Formulário para registro de coleta de sangue.	Deverá ser preenchido no momento da coleta de sangue	Registrar as variáveis pré-analíticas referente à etapa de coleta	POP para coleta de sangue nos setores de pesquisas do HU-UFMA	Membro (s) do grupo de pesquisa ou funcionário (s) do setor de pesquisa que realizou ou acompanhou a etapa de coleta de sangue
Formulário para registro de processamento e armazenamento de amostras sanguíneas.	No momento do processamento das amostras sanguíneas	Registrar as variáveis pré-analíticas referente à etapa de processamento	POP para processamento e armazenamento de amostra de sangue	Membro (s) do grupo de pesquisa ou funcionário (s) do setor de pesquisa que realizou ou acompanhou às etapas de processamento e armazenamento de amostras sanguíneas

Continua...

*Os membros do grupo pesquisas e/ou funcionários dos setores de pesquisas que realizam estas etapas, são autorizados pelo Pesquisador Responsável e devem passar por treinamento.

*** A partir do momento que a TI desenvolver o Sistema de Cadastro do Participante e geração do ID do Participante, bem como o Sistema de Cadastro da Amostra e geração do ID da amostra, os POP's referentes a estas atividades devem ser criados.

Quadro 3 (Conclusão) – descrição das etapas em que cada formulário e POP deverão ser utilizados durante a manipulação.

FORMULÁRIOS PROPOSTOS	ETAPA DE PREENCHIMENTO	FINALIDADE	POP A SER UTILIZADO	RESPONSÁVEL PELO PREENCHIMENTO*
Formulário para registro de extração e armazenamento de Ácidos Nucléicos: DNA e RNA.	No momento da extração e armazenamento dos Ácidos Nucléicos	Registrar as variáveis pré-analíticas referente à etapa de extração e armazenamento de Ácidos Nucléicos	POP com instruções gerais para extração e armazenamento de Ácidos Nucléicos: DNA e RNA	Membro (s) do grupo de pesquisa ou funcionário (s) do setor de pesquisa que realizou ou acompanhou às etapas de extração e armazenamento de Ácidos Nucléicos
Formulário para registro de coleta de amostras de tecido.	No momento da coleta de amostras de tecido	Registrar as variáveis pré-analíticas referente à etapa de coleta de tecidos	POP para coleta, processamento e armazenamento de amostra de tecido obtida a partir de peça cirúrgica e de biópsia.	Membro (s) do grupo de pesquisa ou funcionário (s) do setor de pesquisa que realizou ou acompanhou a etapa de coleta de amostra de tecido
Formulário de registro de transporte, processamento e armazenamento de amostra de tecido.	No momento do transporte, processamento e armazenamento de amostra de tecido.	Registrar as variáveis pré-analíticas referentes às etapas de transporte, processamento e armazenamento de amostra de tecido.	POP para coleta, processamento e armazenamento de amostra de tecido obtida a partir de peça cirúrgica e de biópsia.	Membro (s) do grupo de pesquisa ou funcionário (s) do setor de pesquisa que realizou ou acompanhou às etapas de transporte, processamento e armazenamento de amostra de tecido.

Continua...

*Os membros do grupo pesquisas e/ou funcionários dos setores de pesquisas que realizam estas etapas, são autorizados pelo Pesquisador Responsável e devem passar por treinamento.

*** A partir do momento que a TI desenvolver o Sistema de Cadastro do Participante e geração do ID do Participante, bem como o Sistema de Cadastro da Amostra e geração do ID da amostra, os POP's referentes a estas atividades devem ser criados.

8. APLICABILIDADE DOS PRODUTOS

O Produto é importante, pois poderá ser utilizado nos Centros de Pesquisas do HU-UFMA, considerando a normatização e regularização dos Biorrepositórios existentes e/ou criação de novos, tendo em vista que estas atividades ainda estão sendo padronizadas na instituição. Desta forma, os documentos apresentados subsidiarão os pesquisadores para a criação, guarda e gerenciamento dos biorrepositórios utilizados nas pesquisas, especialmente nas etapas de coleta, processamento e armazenamento do material biológico. Além de poder auxiliar o setor de TI na criação dos cadastros das amostras e geração do ID da amostra e do participante da pesquisa. Posteriormente, este documento poderá ser disponibilizado para rede de hospitais universitários pela EBSEH.

9. INSERÇÃO SOCIAL

Diversos estudos que utilizam material biológico humano contribuem para o benefício do participante e/ou para formulação de estratégias de políticas públicas na área de controle e prevenção de saúde. A utilização dos protocolos para organização dos Biorrepositórios se configuram como essenciais para a qualidade destas amostras armazenadas, proporcionando resultados confiáveis nas pesquisas. Além disso, a aplicabilidade adequada dos protocolos assegura a privacidade e confidencialidade do participante da pesquisa e de seu material biológico cedido.

10. DISCUSSÃO

Através das respostas aos questionários foi possível caracterizar os setores que armazenam Biorrepositórios quanto aos recursos humanos, estrutura física e padrões técnicos existentes (objetivo geral – item a); bem como caracterizar o perfil dos gestores e dos pesquisadores responsáveis, descrever os tipos de materiais biológicos utilizados nas pesquisas, identificar os procedimentos operacionais padrões existentes e conhecer as formas de identificação, registro e rastreabilidade das amostras armazenadas para pesquisa na instituição (objetivos específicos 1, 2, 3 e 4, respectivamente).

Observou-se que tanto os pesquisadores quanto os gestores são compostos por uma equipe multiprofissional, sendo a maioria doutores. O setor 1 conta com uma equipe de seis profissionais de diversas áreas dedicados integralmente às atividades das pesquisas, dentre elas, organização dos Biorrepositórios, enquanto no setor 2 e 3 todos os profissionais atuam na assistência e na pesquisa. Dentre estes profissionais, têm-se doutores, mestres e especialistas. Verifica-se que um dos setores não oferece pessoal para suporte aos grupos de pesquisa com atribuições específicas para as tarefas de registro, processamento, rastreabilidade das amostras e documentos que as acompanham referentes aos Biorrepositórios armazenados.

Embora não tenha legislações nacionais específicas para áreas que armazenam Biorrepositórios, algumas normativas, como a RDC ANVISA nº 56/2010, estabelece que o setor de armazenamento de material biológico deve dispor de uma estrutura administrativa e técnico-científica. A equipe profissional deve ser em quantidade suficiente e com formação e capacitação compatível com as atividades executadas.

Em relação à estrutura física, alguns pontos que vale considerar são: a necessidade de a instituição expandir os equipamentos para armazenagem visando acomodar o crescimento das coleções de amostras biológicas em longo prazo; adequar a circulação de ar suficiente, com entrada de ar frio e saída de ar quente com exaustor, para evitar a acumulação de excesso de calor e umidade; e presença de um plano de contingenciamento com freezers backup, para as áreas aonde tem Biorrepositórios armazenados. A Portaria nº 2.201/2011 do MS estabelece que o biorrepositório e o biobanco devem adotar um conjunto de práticas, equipamentos e instalações voltados à prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa.

Quanto aos POP's existentes, as respostas aos questionários aplicados identificaram que os grupos de pesquisas contêm POP's para padronizar algumas das etapas referentes à manipulação, gerenciamento, e guarda dos Biorrepositórios armazenados, outros estão sendo desenvolvidos. Estes POP's não estão presentes nos setores estudados fazendo parte de um manual de gestão de qualidade, porém um dos setores contêm POP's para coleta, processamento, armazenamento, identificação e registro das amostras. Sobre este tema, a ISBER (2012, p. 65) orienta que "a disponibilidade de amostras biológica de alta qualidade para fins de pesquisa

requer o desenvolvimento de métodos padronizados de coleta, armazenamento e recuperação em repositórios biológicos”.

Os tópicos sobre registro, identificação, rotulagem de recipientes e rastreabilidade das amostras demonstrou quais destas etapas são padronizadas pelos grupos de pesquisas e pelos setores estudados e quais deles necessitam de elaboração de POP'S. A elaboração dos POP's referentes a tais atividades devem seguir as Boas Práticas Clínicas presentes na literatura, dentre elas, a ISBER (2012, p. 58, *tradução nossa*): “nenhuma informação referente a dados individuais como nome, data de nascimento, número de documentos pessoais ou que remetem ao estado de saúde pessoal deve constar na identificação da amostra”, e a WHO-IARC (2007, p. 11) que apresenta dentre as suas recomendações, que os registros devam ser criados e mantidos de uma maneira que permita a rastreabilidade total dos eventos pré-analíticos. Foi constatada ainda, a necessidade de construir fluxograma das etapas de criação, manipulação e guarda dos Biorrepositórios armazenados nos setores de pesquisa da instituição.

Após a identificação dos tipos de material biológico das pesquisas armazenados na instituição e dos POP's existentes nos grupos de pesquisas, foram desenvolvidos os Procedimentos Operacionais Padrões para guarda de Biorrepositórios no Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (objetivo geral – item b); foram desenvolvidos, ainda: proposta de manual para coleta, processamento, armazenamento e descarte de material biológico humano visando à constituição de Biorrepositórios; modelos de formulários para cadastro de pesquisa e de amostras; e modelos de formulários de registros para coleta, processamento e armazenamento do material biológico utilizado (objetivos específicos 5, 6, e 7, respectivamente). Estes documentos integram o Produto deste trabalho e por questões didáticas, os POPs e os Formulários ficaram dentro do Manual proposto, fazendo parte dos anexos;

A elaboração do Manual, dos POP's e dos modelos de formulários de registros para coleta, processamento e armazenamento do material biológico utilizado foi norteada pelas normativas nacionais e boas práticas recomendadas por instituições nacionais e internacionais, sobre o tema trabalhado (as literaturas estão disponíveis no item Referências, dos respectivos documentos). Além disso, buscou-se contemplar as exigências técnicas e legais de diversos setores, como: a indústria farmacêutica, a nível mundial, que exige dentre os aspectos técnico-regulatório, a padronização dos

procedimentos pelas ORCPs¹ (empresas como hospital, centro de pesquisa clínica, centros educacionais e outros) para a terceirização das atividades de testes pré-clínicos e clínicos e, nacionalmente, o Ministério da Educação que instituiu em 2014 o Programa EBSEH de Pesquisas Clínicas Estratégicas para o Sistema Único de Saúde (EPECSUS)² através da Portaria de nº 09, que tem como uma de suas estratégias, harmonizar etapas, atores, procedimentos e fluxos necessários à aprovação, desenvolvimento, execução orçamentária e monitoramento dos projetos nos hospitais universitários federais.

Para a criação dos POP's foram consideradas, também, as informações obtidas durante as visitas no setor de Biobanco do HU-UFMA sobre os métodos de coleta, preservação e guarda de material biológico neste setor; e foram consultados alguns dos POP's existentes nos grupos de pesquisas, dentre estes, os POP's para extração de ácidos nucleicos existentes em dois grupos de pesquisa; os POP's para coleta e processamento de amostra sanguínea de um grupo dos grupos de pesquisa e de um dos setores estudado, para fins de assistência. O objetivo destas consultas foi de adequar os POP's produzidos neste trabalho com os já existentes na instituição, ao mesmo tempo propor melhorias, como por exemplo, os formulários de anotações produzidos neste estudo com o propósito de serem utilizados em cada etapa de manuseio das amostras a fim de controlar todas as variáveis pré-analíticas do material biológico utilizado. Os documentos elaborados neste trabalho seguiram o formato do Manual de Padronização de POPs proposto pela EBSEH (2014).

Em relação ao Modelo de Formulário, visando à criação do Sistema de Cadastro do Participante da Pesquisa e Geração do ID (identificador único) do Participante, este é composto de três campos:

- Campo A – informações sobre a pesquisa e Biorrepositório (item 1). Este campo busca reunir e registrar informações que auxiliem na rastreabilidade e no gerenciamento da pesquisa e do Biorrepositório, pois “os centros de pesquisas devem ter sistemas de registros permanentes e rastreáveis para

¹ ORPC (Organização Representativa para Pesquisa Clínica) é uma pessoa ou organização (comercial, acadêmica ou outra) contratada pelo patrocinador para realizar uma ou mais das tarefas e funções do patrocinador relacionadas ao estudo (Organização mundial da Saúde, 2005, p. 51).

² A EPECSUS tem como objetivo contribuir com desenvolvimento científico e tecnológico e formação profissional em saúde, em consonância com as políticas de Educação, de Saúde e de Ciência, Tecnologia e Inovação (Ministério da Educação, 2014, p 1).

compilar informações, como forma de evidências registradas e escritas”. (ISBER, 2012, p. 27, *tradução nossa*).

- Campo B – informações sobre o participante da pesquisa (item 2). “As variáveis pré-analíticas têm grande impacto sobre a qualidade dos resultados de laboratório e estão agrupadas em três categorias: variáveis fisiológicas, variáveis de coleta de espécimen e fatores de interferência”. (SBPC, 2014, p. 36). O Formulário proposto procurou abordar, ao máximo, essas características para auxiliar o pesquisador na análise dos resultados e obter qualidade nas pesquisas.
- Campo C – Método proposto para gerar o código do identificador único (ID) do participante da pesquisa (item 3). O método proposto para gerar o ID do participante da pesquisa atende ao que preconiza a Portaria 2.201/2011 a qual dispõe que os setores de pesquisas devam garantir a privacidade e a confidencialidade do sujeito da pesquisa e de seu material biológico armazenado. Ao mesmo tempo o método procurou utilizar algumas informações referentes ao estudo como critério para gerar os dígitos identificadores do participante da pesquisa, seguindo o modelo utilizado pelo projeto Elsa. Sobre este método, Fedeli (2013, p. 17) deu a seguinte explicação para a geração do ID do participante da pesquisa: “o primeiro dígito identificou a fase do projeto, o segundo dígito o Centro de investigação ELSA, o terceiro o tipo de recipiente que contem o material biológico e os demais dígitos são uma sequencia numérica”. (Fedeli, 2013, p. 17). Estes itens ajudam na rastreabilidade as informações.

O Modelo de formulário, visando à criação do Sistema de Cadastro da amostra e geração do ID (Identificador Único) da amostra armazenada contém informações sobre o ID do participante, localização de armazenamento das amostras e retirada da amostra; além de conter proposta para a geração do ID da amostra, de forma a proteger a privacidade e confidencialidade do participante da pesquisa.

Este método proposto incorporou alguns elementos pré-analíticos das amostras para facilitar a rastreabilidade. Grandes Centros de pesquisas internacionais utilizam informações relacionadas às variáveis analíticas das amostras como forma de gerar o ID presente no rótulo de armazenagem.

O Instituto Internacional para Repositórios Biológicos e Ambientais (ISBER) desenvolveu um código denominado de SPREC – “Código Pré-Analítico Padrão” (do

inglês “*Standard PReanalytical Code*”) que identifica os principais fatores pré-analíticos de fluidos clínicos e biospecimens sólidos “a cada biospecimen é atribuído um código de sete elementos que corresponde a sete variáveis pré-analíticas [...], em uma ordem definida, separados por seis hifens”. (BETSOU et al., 2010, p.1005). Este método já foi implementado nos Estados Unidos, Austrália e alguns países da Europa.

Os Modelos de Formulários para utilização nas etapas de coleta, processamento e armazenamento do material biológico visa registrar as variáveis pré-analíticas das amostras, que incluem, dentre outras:

O tipo de tubo de coleta, o tempo e temperatura de pré-centrifugação, os detalhes de centrifugação para fluidos biológicos, tempos de isquemia quente e fria para tecidos sólidos, tipo de amostragem, tipo e tempo de fixação, tempo para colocar em armazenamento em longo prazo, tipo de armazenamento em longo prazo e protocolo exato de criopreservação e de restauração para espécimes ambientais. (ISBER, 2012, p. 31, *tradução nossa*).

Compondo o conjunto de documentos desenvolvidos neste trabalho e atendendo ao objetivo específico de número 8, foram elaborados dois Fluxogramas:

1. Fluxograma de criação de Biorepositório no HU-UFMA (Figura 2).
2. Fluxograma de manipulação e guarda das coleções de amostras biológicas que compõem os Biorrepositórios do HU-UFMA (Figura 3).

Para as suas construções, foram consideradas as informações obtidas dos resultados aos questionários, às informações obtidas durante as visitas aos setores de pesquisas do HU-UFMA que contém Biorrepositórios armazenados, e foram observadas, ainda, as recomendações constantes na Portaria nº 2.201 do MS e na Resolução nº 441 do CNS. Os Fluxogramas criados, os quais estão apresentados mais adiante, neste mesmo item, fornecem uma visão geral sobre a criação dos Biorrepositórios quanto aos aspectos técnicos e éticos e as etapas aonde cada documento desenvolvido neste trabalho poderá ser utilizado.

Figura 3 – Fluxograma de criação de Biorrepositórios no HU-UFMA.

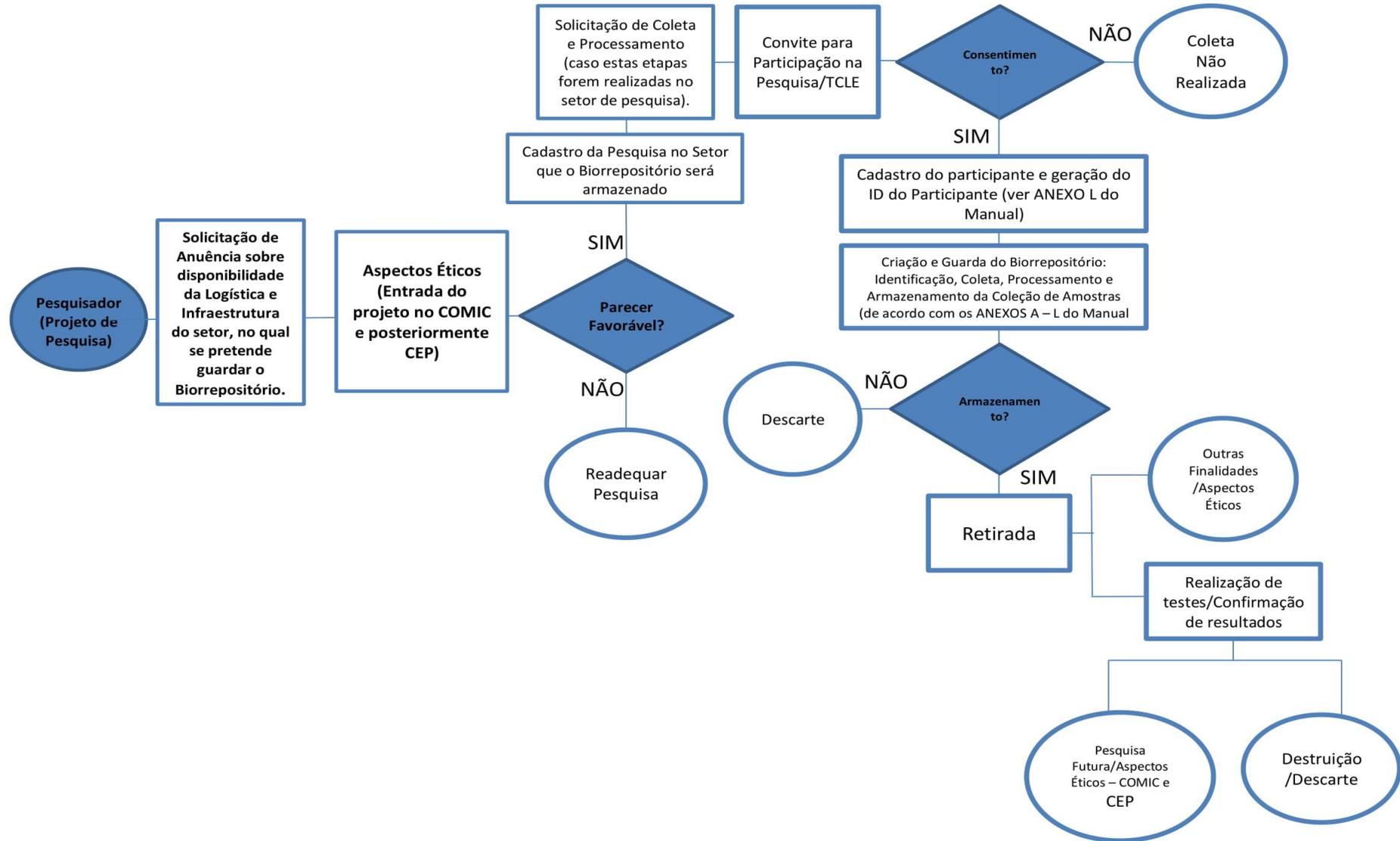
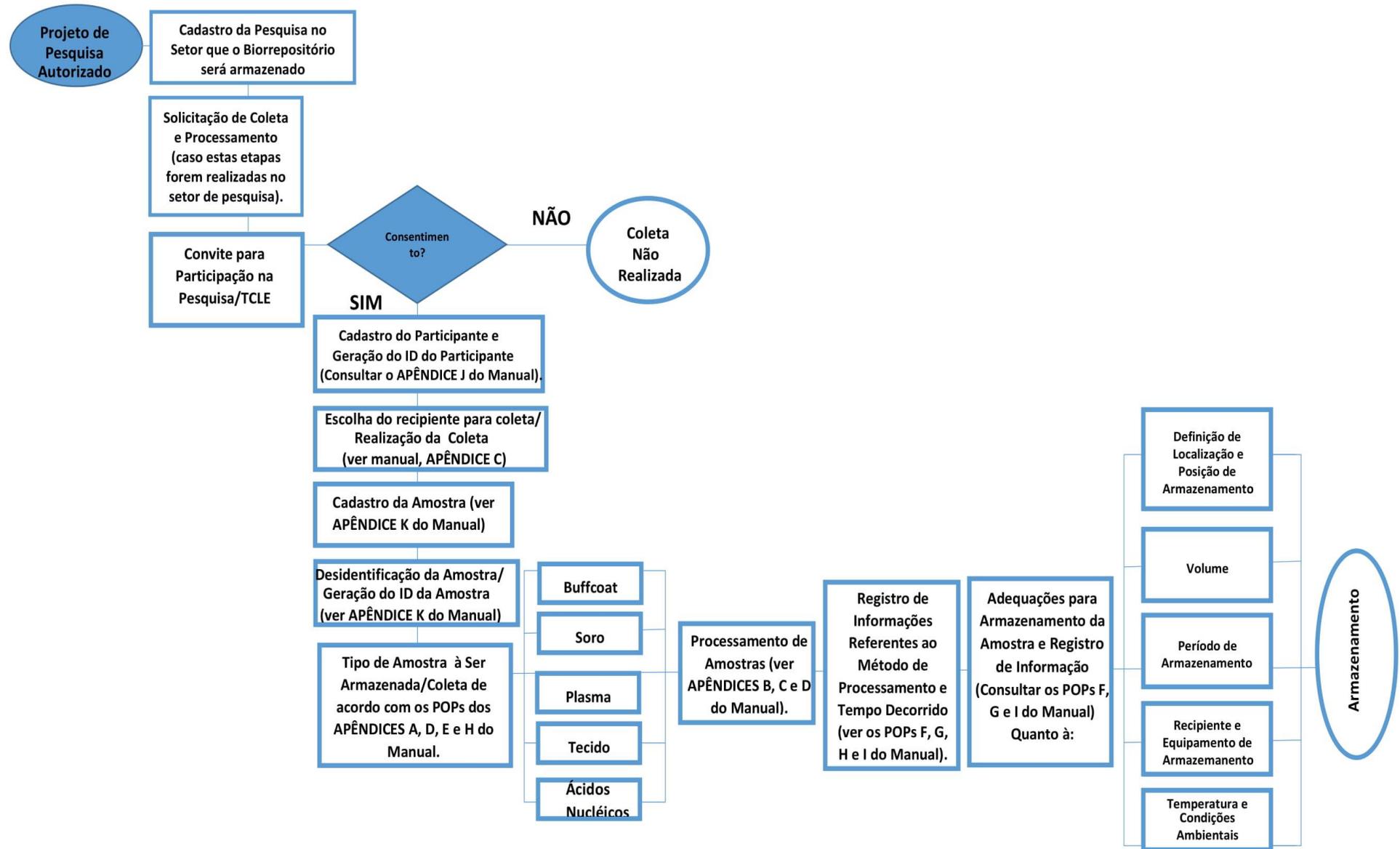


Figura 4 – Fluxograma de manipulação e guarda das coleções de amostras biológicas que compõem os Biorrepositórios do HU-UFMA.



Desta forma, o Produto desenvolvido neste trabalho poderá servir de guia aos pesquisadores do HU-UFMA quanto à manipulação e guarda do material biológico coletado para a pesquisa. Os Fluxogramas, o Manual, os Procedimentos Operacionais Padrão e os Formulários para registro das etapas de coleta, processamento e armazenamento do material biológico armazenado apresentam maior viabilidade de utilização em curto prazo pela instituição. Os sistemas de Cadastros do Participante da Pesquisa; de Cadastro da Amostra e a ferramenta para geração de ID, por suas peculiaridades técnicas, necessita de um tempo maior para o desenvolvimento e posterior implementação. Porém, as propostas aqui apresentadas podem servir de instrumentos para auxiliar no desenvolvimento destas ferramentas tecnológicas pela TI, uma vez que a instituição já formalizou o seu interesse em informatizar os seus processos referentes ao gerenciamento do material biológico armazenado.

Para que os gestores e pesquisadores tenham acesso aos documentos produzidos neste trabalho, será, a princípio, disponibilizada uma cópia em formato impresso aos setores de pesquisas e aos pesquisadores responsáveis, uma cópia será disponibilizada também, ao CEP institucional. Posteriormente, será definida juntamente com a gerência de ensino e pesquisa uma forma de discutir o trabalho desenvolvido com os gestores e pesquisadores responsáveis, após uma revisão detalhada pelos mesmos, e se for demonstrado viável, os documentos poderão seguir o trâmite de formalização institucional.

11. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

O HU-UFMA, através da Gerência de Ensino e Pesquisa, vem desenvolvendo ações com o intuito de fortalecer a pesquisa na instituição, dentre elas, o gerenciamento das pesquisas e normatização das atividades que envolvem Biorrepositórios, como o gerenciamento das amostras biológicas utilizadas, nos seus diversos percursos. Alguns documentos já foram elaborados e estão em fase de aprovação pela instituição. Outros, ainda precisam ser elaborados. Neste cenário, identificar os parâmetros técnicos ausentes durante o manuseio e guarda de material biológico nos setores de pesquisa da instituição; conhecer o perfil dos profissionais que atuam na pesquisa; conhecer a forma como os grupos de pesquisas estão

armazenando e gerenciando seus Biorrepositórios e; caracterizar as áreas que armazenam material biológico quanto à infraestrutura e padrões técnicos existentes é fundamental para planejar com mais cuidado a organização destes setores e gerenciamento destas coleções biológicas armazenadas, bem como para efetuar as devidas adequações técnicas e éticas e, conseqüentemente, a regularização destes setores quanto ao gerenciamento dos Biorrepositórios existentes, visando à padronização destas atividades na instituição. Desta forma, espera-se que o presente trabalho venha a contribuir com a organização e padronização dos Biorrepositórios armazenados na instituição, bem como os que virão a ser criados.

O processo de organização dos Biorrepositórios armazenados na instituição, certamente, não se encerrará com a aprovação dos documentos já elaborados pela instituição, nem tampouco com a proposição deste Produto. Neste sentido, tenho como expectativa profissional contribuir para a melhoria dos processos do HU-UFMA, aplicando, sempre que possível, o conhecimento adquirido ao longo da minha jornada no Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do HCPA. Tendo em vista, que foi uma experiência gratificante e enriquecedora. Pois, através desta vivência, reforcei ainda mais a ideia de que para a instituição crescer na pesquisa e assistência, os profissionais devem estar comprometidos com a missão da instituição, com o domínio das técnicas utilizadas, com o controle de qualidade, com os resultados de pesquisas, controle de reagentes, cuidados com os equipamentos e gerenciamento adequado do material biológico armazenado.

REFERÊNCIAS

ASHTON-PROLLA, Patrícia et al. Biobanco do Hospital de Clínicas de Porto Alegre: Aspectos Técnicos, Éticos, Jurídicos e Sociais. Seção de Bioética. Rev HCPA. v.1, n. 24, p. 74-79, 2009

BETSOU, Fotini, et al. ISBER/ International Society for Biological and Environmental Repositories. Working Group on Biospecimen Science. Standard Pre-analytical coding for biospecimens: Defining the sample PREanalytical Code (SPREC). Cancer Epidemiol Biomarkers Prevention.19 (4):1004–1011, 2010.

BRASIL. **Constituição da República Federativa do Brasil**. Brasília, 1988.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 306. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde**. Brasília, 2004.

_____. Lei nº 11.105. **Estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados - OGM e seus derivados**. Brasília, 2005.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 33. **Aprova o Regulamento técnico para o funcionamento dos bancos de células e tecidos germinativos**. Brasília, 2006.

_____. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.201. **Estabelece as Diretrizes Nacionais para Biorrepositório e Biobanco de Material Biológico Humano com Finalidade de Pesquisa**. Brasília, 2011a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 441. **Diretrizes para análise ética de projetos de pesquisas que envolvam armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas anteriores**. Brasília, 2011b.

BRASIL. Ministério da Educação. Portaria interministerial nº 09. **Institui o Programa EBSEH de Pesquisas Clínicas Estratégicas para o Sistema Único de Saúde - EPECSUS, no âmbito da Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares**. Brasília, 2014.

BURTIS, Carl A.; BRUNS, David E. Tietz: Fundamentos de Química Clínica e Diagnóstico Molecular. Tradução de Francisco Sandro Menezes Rodrigues. 7ª ed. Elsevier. Rio de Janeiro, 2016.

FEDELI, Lígia Maria Giongo. Implementação do biobanco e do laboratório central e validação do protocolo de laboratório do ELSA-Brasil. Dissertação (Mestrado Programa de Ciências Médicas). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

Fernandes MS, Ashton-Prolla P, Matte U, Meurer L, Osvaldt A, Bittelbrunn AC, Schlatter R, Kucyk R, Pereira da Silva FM, Clausell N, Goldim JR. A normativa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para o armazenamento e utilização de materiais biológicos humanos e informações associadas em pesquisa: uma proposta interdisciplinar. *Rev HCPA* 30(2):169–179. Porto Alegre, 2010.

GÜTTLER, M. C. S. Relatório Final de Estágio Supervisionado do Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, 29 p. Trabalho não publicado.

ISBER/International Society for Biological and Environmental Repositories. Best Practices for Repositories: *Collection, Storage, Retrieval and Distribution of Biological Materials for Research*. ISBER HEAD OFFICE. Suite 400-570, West 7th Avenue Vancouver BC V5Y 1B3. Canadá, 2012.

Lehmann, S. et al. ISBER/ International Society for Biological and Environmental Repositories. Standard Preanalytical Coding for Biospecimens: Review and Implementation of the Sample PREanalytical Code (SPREC). *BIOPRESERVATION AND BIOBANKING*. Volume 10, Number 4:366–374, 2012.

SBPC/ML. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial: Coleta e Preparo da Amostra Biológica*. – Barueri, SP: Minha Editora, 2014.

UNESCO. Organização das Nações Unidas Para a Educação, Ciência e Cultura / Comissão Nacional da UNESCO. *Declaração Universal Sobre Bioética e Direitos Humanos*. Portugal, 2005.

WHO-IARC. *Common minimum technical standards and protocols for biobanks dedicated to cancer research*. Lyon: WHO; nº 44, 2017.

APÊNDICES

APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO PARA O PESQUISADOR RESPONSÁVEL

**HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE – HCPA
MESTRADO PROFISSIONAL EM PESQUISA CLÍNICA**

**GUARDA DE MATERIAL BIOLÓGICO EM BIORREPOSITÓRIOS: IMPLANTAÇÃO
DE PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÕES NO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO / HU-UFMA.**

Pesquisadora: Maria Cláudia Santos Güttler

**Questionário Para Avaliação do Funcionamento dos Biorrepositórios
Existentes nos Setores de Pesquisa do HU-UFMA**

Questionário para os Pesquisadores Responsáveis por projetos de pesquisas no HU-UFMA que utilizam o armazenamento de material biológico

Esta pesquisa está sendo realizada para o Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), cujo objetivo é desenvolver Procedimentos Operacionais Padrões para guarda de material biológico em Biorrepositórios do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão/HU-UFMA. Este Questionário que será respondido pelos Pesquisadores Responsáveis por projetos de pesquisas no HU-UFMA contém 17 Questões, abertas, fechadas e mistas. O preenchimento do Questionário é muito importante para o desenvolvimento do trabalho, pois será fundamental para mapear as atividades dos biorrepositórios em funcionamento no hospital, quanto à guarda, registro e rastreabilidade do material biológico utilizado em seus diversos percursos, adequações técnicas e éticas durante a manipulação das amostras e gerenciamento do material biológico armazenado. É importante o preenchimento completo e de forma legível, com caneta esferográfica.

Por favor, responda as perguntas a seguir.

Data de preenchimento do Questionário: ___/___/___

Nome (opcional): _____

Setor de Pesquisa (opcional): _____

PERFIL DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

1. Responda os itens dos campos abaixo

Idade:
Formação:
Titulação:
Área de formação da maior titulação:
Cargo / função atual:
Quanto tempo você trabalha na função atual?
Vínculo institucional:
Qual a área da pesquisa que você atua?
Os projetos de pesquisas que você coordena recebe auxílio financeiro? De qual sistema ou instituição de fomento?

ASPECTOS GERAIS DOS BIORREPOSITÓRIOS

2. Resumidamente, Biorrepositório é uma coleção de material biológico humano, coletado e armazenado ao longo da execução de um projeto de pesquisa específico. Identifique através das opções abaixo o (s) tipo (s) de amostra (s) pertencentes ao seu Biorrepositório e armazenadas nos setores de pesquisas do HU-UFMA:

- a) tecidos sólidos
- b) Fluidos biológicos. Por favor, especifique. Por exemplo, sangue total, soro sanguíneo, plasma, urina, saliva _____
- c) Células
- d) Ácidos nucleicos
- e) outros _____

3. Assinale com um X a (s) opção (ões) com a (s) qual (is) você concorda. O biorrepositório do seu projeto de pesquisa armazena os materiais biológicos em:

- () Biobanco da instituição
- () Em freezers do Setor de pesquisa aonde o projeto está sendo desenvolvido
- () Em área compartilhada para armazenamento na instituição
- () Em instalações próprias fora da instituição

ASPECTOS ÉTICOS

4. Quando o material biológico humano é coletado, as seguintes autorizações foram concedidas para a coleta? Assinale com um X a (s) opção (ões) com a (s) qual (is) você concorda.

- () Aprovação do Comitê de Ética
- () Processo apropriado de consentimento do participante

- () Não se aplica
 () Não sei responder

CONTROLE DE QUALIDADE

5. As Boas Práticas Clínicas recomenda que deva ser adotado pelos grupos de pesquisas um Sistema de Garantia de Qualidade (QA) e Controle de Qualidade (QC) descrevendo o compromisso do Grupo com as atividades e resultados da pesquisa. Para cada item da tabela abaixo assinale com um X em uma das alternativas e se possível comente sobre cada item no espaço apropriado. O grupo de pesquisa tem procedimentos escritos para garantir o Controle de Qualidade nos seguintes eventos:

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder	Caso a resposta seja "SIM" enumere as técnicas utilizadas e caso seja "NÃO" comente sobre as dificuldades enfrentadas sobre o tema em Questão.
a) processos utilizados na coleta?	()	()	()	
b) processamento das amostras?	()	()	()	
c) armazenamento das amostras?	()	()	()	
d) registro e identificação das amostras?	()	()	()	
e) rotulação das amostras?	()	()	()	
f) destruição e descarte das amostras.	()	()	()	
g) critérios para definir as não conformidade nas diversas etapas de manuseio das amostras?	()	()	()	

6. Nas pesquisas laboratoriais, devem ser observadas, sempre que possível, as variáveis pré-analíticas de modo a preservar a integridade e estabilidade das amostras, garantindo bons resultados de pesquisa. Sobre esse tema, assinale com um X em uma das alternativas de cada item abaixo e se possível comente sobre cada um no espaço apropriado:

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder	Caso a resposta seja "SIM" comente sobre os métodos utilizados e caso seja "NÃO" comente sobre as dificuldades enfrentadas sobre o tema em Questão.
a) Os tamanhos de alíquota são selecionados de acordo com a necessidade de evitar ciclos de congelamento-descongelamento adicionais?	()	()	()	
b) Os tamanhos de alíquota são selecionados de acordo com a necessidade de equilibrar os requisitos de armazenamento e os custos?	()	()	()	
c) O frasco para armazenamento das amostras foi testado para ter certeza de que ele vai funcionar como esperado em todas as condições ambientais projetadas?	()	()	()	
d) O Rótulo contido no frasco foi testado para ter certeza de que ele vai funcionar como esperado em todas as condições ambientais projetadas?	()	()	()	
e) Os tubos para coleta são escolhidos levando-se em conta o objetivo da pesquisa?	()	()	()	
f) Você realiza testes de QC (Controle de Qualidade) para avaliar a pré-análise das amostras biológicas?	()	()	()	
g) Você relata adequadamente as não conformidades pré-analíticas referentes à manipulação das amostras, de modo que sejam rastreadas futuramente?	()	()	()	

RECURSOS HUMANOS E TREINAMENTO DOS GRUPOS DE PESQUISAS

7. Gostaria que você marcasse uma das alternativas para os três itens abaixo a respeito da pergunta a seguir. Na sua equipe de pesquisa, existe um membro designado para:

VARIÁVEIS	Sim	Qualquer membro da equipe está apto a executar esta tarefa.	Não Sei Responder
a) registrar as informações sobre o material biológico a ser coletado e sobre o participante da pesquisa?	()	()	()
b) acompanhar a coleta das amostras a serem analisadas, o processamento das amostras e realização dos testes?	()	()	()
c) assegurar a rastreabilidade das amostras e dos documentos que as acompanham em todo o seu percurso, até completar o registro dos exames laboratoriais?	()	()	()

Se você tiver um comentário relacionado à pergunta 6, deixe-o aqui:

8. A respeito do treinamento com a equipe de pesquisa, peço que você marque uma das alternativas para os três itens da tabela abaixo sobre a seguinte pergunta: Existe um programa de treinamento com os pesquisadores sobre os seguintes eventos?

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder
a) as técnicas utilizadas na pesquisa.	()	()	()
b) instruções gerais e específicas de biossegurança que reflitam os riscos identificados em executar as tarefas associadas à manipulação das amostras e procedimentos laboratoriais.	()	()	()
c) as políticas internas do laboratório.	()	()	()

REGISTRO, IDENTIFICAÇÃO E RASTREABILIDADE DAS AMOSTRAS

9. Com relação às amostras depositadas nos biorrepositórios, a forma como elas são registradas permite rastrear os seguintes eventos?

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder
a) Tipo de frasco.	()	()	()
b) Volume.	()	()	()
c) Tipo de espécime	()	()	()
d) Método da coleta	()	()	()
e) Data e hora da coleta.	()	()	()
f) Data e hora do processamento.	()	()	()
g) Tipo de armazenagem	()	()	()
h) Temperatura de armazenamento	()	()	()

10. Cada amostra biológica depositada em Biorrepositório recebe um número de identificação único (Ex., um ID de amostra)?

- () Sim
 () Não
 () Não sei responder

11. O identificador único da amostra ou um código que está ligado ao ID da amostra é fixado ao frasco?

- () Sim
 () Não
 () Não sei responder

12. Como os rótulos são gerados?

- () Manuscrito
 () Gerado por computador
 () outros
 () Não sei responder

13. As etiquetas incluem códigos de barras que contêm a identificação da amostra coletada ou outro número a ela associado?

- () Sim
 () Não
 () Não sei responder

EQUIPAMENTOS DE ARMAZENAGEM

14. Você costuma armazenar as amostras de biorrepositórios em qual destes equipamentos?

- () freezer de nitrogênio líquido (LN₂)
 () freezer mecânico -80°C

- () freezer mecânico -20°C
 () refrigerador

COLETA, PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

15. Gostaria que você marcasse uma das alternativas para os itens abaixo a respeito da pergunta a seguir. Você tem procedimentos escritos que permite definir e rastrear os seguintes eventos:

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder	Caso a resposta seja "SIM" comente sobre os métodos utilizados e caso seja "NÃO" comente sobre as dificuldades enfrentadas sobre o tema em Questão.
a) limites para rejeitar ou sinalizar amostras quando o atraso entre a coleta de amostra e o início do processamento é muito longo?	()	()	()	
b) limites para rejeitar ou sinalizar amostras quando ocorreu a identificação errada durante a coleta ou processamento?	()	()	()	
c) limites para rejeitar ou sinalizar amostras quando ocorreu um erro de processamento?	()	()	()	
d) limites para rejeitar ou sinalizar amostras congeladas quando forem inadvertidamente descongeladas?	()	()	()	

TRANSPORTE DE AMOSTRAS

16. O transporte de amostras biológicas faz parte da fase pré-analítica de realização de exames laboratoriais, por isso, a ANVISA estabeleceu padrões para o transporte de material biológico. Quando através do seu Grupo de Pesquisa se faz necessário transportar as amostras para outro setor, ou outro local fora da Instituição, o material é acondicionado, rotulado e transportado de acordo com os requisitos estabelecidos pelas normas da ANVISA para assegurar a proteção do material

biológico, das pessoas e do ambiente durante todas as etapas do transporte até o seu destino final?

() Sim

() Não

() Não sei responder

Se você tiver um comentário relacionado à pergunta 13 (transporte de amostras),
deixe-o aqui:

17. Para finalizar, gostaria que você deixasse a sua opinião sobre a padronização de protocolo para guarda de material biológico em biorrepositórios do Hu-UFMA.

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO PARA O GESTOR DO SETOR DE PESQUISA**HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE – HCPA
MESTRADO PROFISSIONAL EM PESQUISA CLÍNICA****GUARDA DE MATERIAL BIOLÓGICO EM BIORREPOSITÓRIOS: IMPLANTAÇÃO
DE PROTOCOLO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO MARANHÃO / HU-UFMA.****Questionário para avaliação da estrutura física e organizacional dos Setores de
Pesquisa do HU-UFMA****Pesquisadora: Maria Cláudia Santos Güttler**Questionário para os Gestores dos Setores de pesquisa do HU-UFMA

Esta pesquisa está sendo realizada para o desenvolvimento de um trabalho de conclusão de curso do Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e tem por objetivo desenvolver Procedimentos Operacionais Padrões para guarda de material biológico em Biorrepositórios do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão/HU-UFMA. Este Questionário, que será respondido pelos Gestores dos Setores de pesquisa do HU-UFMA, contém 26 perguntas fechadas e mistas. O preenchimento do Questionário é muito importante para o desenvolvimento do trabalho, pois será fundamental para mapear a estrutura física, organizacional e Recursos Humanos existentes e necessários nos Biorrepositórios. É importante o preenchimento completo e de forma legível, com caneta esferográfica de tinta preta ou azul.

Por favor, responda as perguntas a seguir.

Data de preenchimento do Questionário: ___/___/___

Nome (opcional): _____

Setor de Pesquisa (opcional): _____

3. Considerando o material biológico coletado e armazenado para pesquisa, gostaria que você marcasse uma das alternativas para os três itens da tabela abaixo. No seu Setor de pesquisa, existe um membro designado para:

VARIÁVEIS	Não. As atividades são realizadas pelos próprios pesquisadores	Sim (existem membros específicos)	Não Sei Responder
a) registrar as informações sobre o material biológico coletado?	()	()	()
b) acompanhar o processamento, armazenamento das amostras e realização dos testes?	()	()	()
c) assegurar a rastreabilidade das amostras e dos documentos que as acompanham em todo o seu percurso, até completar o registro dos exames laboratoriais?	()	()	()

TREINAMENTO E BIOSSEGURANÇA

4. Sobre um programa de treinamento com toda a equipe do Setor de Pesquisa, selecione todos os itens que se aplica:

- () O Setor possui um Coordenador de treinamento.
- () uma vez completado, é feito um registro escrito do treinamento, incluindo a assinatura do funcionário, bem como a assinatura do treinador.
- () É mantido um arquivo de treinamento para cada funcionário incluindo, dentre outros, descrição do cargo, currículo, cópia de certificado e documentação de resultados analíticos obtidos para demonstrar proficiência em tarefas técnicas especificadas.
- () O Setor não possui um programa de treinamento.
- () Não sei responder.

5. No caso de existir um programa de treinamento com toda a equipe do Setor de Pesquisa, identifique os eventos presentes:

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder	Não se Aplica
a) treinamento dos profissionais nas funções ou tarefas específicas que eles executam ou devam executar	()	()	()	()
b) treinamento dos profissionais em todos os procedimentos executadas pelo Setor de modo que sejam capazes de realizar cada um destes em qualquer momento solicitado	()	()	()	()
c) instruções gerais e específicas de biossegurança e segurança química que reflitam os riscos identificados em executar as tarefas associadas à manipulação das amostras e procedimentos laboratoriais.	()	()	()	()
d) instruções gerais e específicas que reflitam os riscos associadas à eletricidade, incêndio e segurança física.	()	()	()	()
e) instruções gerais sobre o uso de equipamentos de proteção individual.	()	()	()	()
f) instruções gerais sobre as políticas internas do Setor.	()	()	()	()

6. O Setor possui um plano de Biossegurança para prevenir ou minimizar lesões aos funcionários?

- () Sim
 () Não
 () Não sei responder
 () Em desenvolvimento.

GESTÃO DE QUALIDADE

7. As Boas Práticas Clínicas recomendam que deva ser adotado pelos setores de pesquisas um Sistema de Garantia de Qualidade (QA) e Controle de Qualidade (QC), contendo os procedimentos operacionais padrão (POP's) das atividades desenvolvidas, normas e missão claramente definida e documentada. Assinale com um X a opção abaixo com a qual você concorda:

- () O Setor possui um Protocolo de Gestão contendo todos os POP's, normas e missão.
 () O Setor possui os POP's para todas as atividades mas não possui um Protocolo de Gestão.

- Não sei responder
 Em desenvolvimento.

8. Considerando que o seu Setor de Pesquisa possua os Procedimentos Operacionais Padrão para as atividades desenvolvidas. Identifique, dentre as listadas abaixo, para qual o seu Setor possui um manual de Protocolos Operacionais Padrões. Para cada item da tabela abaixo assinale com um X em uma das alternativas.

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder	Não se aplica
a) procedimentos escritos para definir condições pré-analíticas padrão?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b) critérios para definir as não conformidades referentes a manipulação das amostras em todas as suas etapas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c) práticas de envio e recebimento de amostras, quando for o caso?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d) práticas de gerenciamento de registros de amostras e informações associadas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

9. O Setor possui um fluxograma que define claramente as etapas de guarda e controle dos Biorrepositórios armazenados?

- Sim
 Não
 Não sei responder
 Em desenvolvimento

10. Regulamentações éticas exigem privacidade e confidencialidade dos dados do participante de pesquisa e do material armazenado em biorrepositórios. No Setor de Pesquisa existem políticas e procedimentos que definem quem pode acessar as amostras e / ou dados associados?

- Sim
 Não
 Não sei responder
 Em desenvolvimento

INSTALAÇÕES E SEGURANÇA

11. Sobre a estrutura física, iluminação e suporte técnico para armazenar as amostras biológicas em biorrepositórios do seu Setor, assinale com um X em uma das alternativas de cada item abaixo e se possível comente sobre cada uma no espaço apropriado:

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder	Caso a resposta seja "NÃO" comente sobre as dificuldades enfrentadas sobre o tema em Questão.
a) Considerando a situação atual e projeções futuras, as instalações tem espaço suficiente para abrigar a coleção atual, bem como projeções de sustentabilidade em longo prazo para acomodar o crescimento das coleções de amostras biológicas?	()	()	()	
b) A área aonde o equipamento de armazenamento de amostras é mantido contém limites específicos para a temperatura do ar ambiente?	()	()	()	
c) A área dos biorrepositórios contém circulação de ar suficiente, com entrada de ar frio e saída de ar quente com exaustor, para evitar a acumulação de excesso de calor e umidade?	()	()	()	
d) Os cabos elétricos e tomadas do local estão instalados adequadamente?	()	()	()	
e) Cada equipamento de armazenamento de amostra (por exemplo, congeladores e refrigeradores) tem seu próprio identificador exclusivo e tem uma convenção estabelecida para numerar prateleiras, racks, caixas, bem como cada local dentro do recipiente, conforme necessário?	()	()	()	

f) A iluminação do Biorrepositório é adequada para fornecer um ambiente de trabalho seguro e para permitir que os materiais sejam cuidadosamente guardados e recuperados?	()	()	()	
g) Existe iluminação de emergência, em caso de perda de energia?	()	()	()	
h) A área tem como uso e acesso exclusivo a finalidade de Biorrepositório?	()	()	()	

12. Um Plano de Contingência na área dos biorrepositórios voltado à prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às perdas das amostras biológicas armazenadas e dos equipamentos presentes é de grande importância. Sobre esse tema, assinale com um X em uma das alternativas de cada item abaixo e se possível comente sobre cada uma no espaço apropriado:

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder	Caso a resposta seja "NÃO" comente sobre as dificuldades enfrentadas sobre o tema em Questão.
a) O Biorrepositório possui um plano de contingenciamento para atender a todas as emergências ou riscos referentes ao armazenamento das amostras?	()	()	()	
b) Existe um sistema de prevenção de incêndio no local, com alarme e extintores de incêndio, adequado para a instalação?	()	()	()	

13. Ainda sobre o Plano de Contingência, é recomendável que os Biorrepositórios tenham um sistema de monitoramento para detectar desvios em relação às temperaturas normais de operação. No seu Setor de Pesquisa, a notificação de desvios de temperatura pelo sistema de monitoramento está restrita à:

- () Somente notificação local (no Setor de Biorrepositório).
 () Notificação dentro e fora do local (fora das dependências físicas do Setor de Biorrepositório)
 () Sem notificação
 () Não sei responder

14. Todos os Biorrepositórios devem ter a capacidade de fornecer armazenamento de backup no caso de um freezer contendo amostras biológicas não fornecer armazenamento dentro de uma faixa previamente estabelecida de temperaturas ou outras condições. Em caso de falha do equipamento, o Biorrepositório mantém:

- Até 10% de capacidade de armazenamento de back-up para espécimes armazenados em freezers mecânicos e refrigeradores.
 Mais de 10% de capacidade de armazenamento de back-up para espécimes armazenados em freezers mecânicos e refrigeradores.
 Não possui freezer backup.
 Outros. Qual: _____
 Não sei responder.

15. As unidades de armazenamento de amostras têm um suprimento de energia de emergência, caso a energia elétrica seja interrompida? Marque os itens que se aplica.

- Sim. Gerador de energia
 Sim. Entrada de CO₂
 Sim. Entrada de N₂
 Não possui suprimento de energia de emergência
 Não sei responder.

16. Para cada item da tabela abaixo assinale com um X em uma das alternativas. Caso haja controle de acesso à área de armazenamento de amostras, o acesso à área é controlado ou monitorado por:

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder
a) fechaduras mecânicas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b) controle magnético	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c) outros (especificar)			

EQUIPAMENTOS DE ARMAZENAGEM

17. Dentre os itens apresentados abaixo, selecione o (s) que se aplica (m) ao tipo de equipamento presente no seu Setor de Pesquisa para armazenamento de material biológico dos biorrepositórios:

- contêiner de nitrogênio líquido (LN₂)
 freezer mecânico -80°C
 freezer mecânico -20°C
 refrigerador

COLETA, PROCESSAMENTO, IDENTIFICAÇÃO, REGISTRO E RASTREABILIDADE DE AMOSTRAS

18. Identifique dentre as atividades listadas abaixo, para qual o seu Setor possui Protocolos Operacionais Padrões. Para cada item da tabela abaixo assinale com um X em uma das alternativas.

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder	Não se aplica
a) todos os procedimentos de coleta de amostras?	()	()	()	()
b) todos os procedimentos de processamento de amostras?	()	()	()	()
c) práticas de armazenamento de amostras?	()	()	()	()
d) procedimentos para rastrear excursões de temperatura durante o armazenamento?	()	()	()	()
e) procedimentos para identificação e registro das amostras e informações associadas?	()	()	()	()
f) práticas de recuperação de amostras?	()	()	()	()
g) procedimentos para destruição e descarte de material biológico?	()	()	()	()

19. Assinale com um X a (s) opção (ões) com a (s) qual (is) você concorda em relação à Questão a seguir: Existe um sistema de inventário que rastreia a localização e o status de cada amostra no Biorrepositório?

- () Sim. Sistema informatizado
- () Sim. Sistema manual
- () Não possui sistema de inventário
- () Não sei responder
- () Em desenvolvimento.

20. Para cada item da tabela abaixo assinale com um X em uma das alternativas. Para quaisquer sistemas de inventário usado no Setor de Pesquisa, ele rastreia eventos como:

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder
a) tipo de frasco?	()	()	()
b) volume?	()	()	()
c) data e hora da coleta?	()	()	()
d) método de coleta?	()	()	()
e) local de coleta?	()	()	()
f) data e hora do processamento?	()	()	()
g) ciclos de congelamento / descongelamento?	()	()	()
h) temperatura de armazenamento?	()	()	()
i) perda?	()	()	()
j) descarte?	()	()	()

21. Para cada item da tabela abaixo assinale com um X em uma das alternativas. Caso haja registros eletrônicos das amostras armazenadas em Biorrepositórios, são tomadas as seguintes medidas de segurança?

VARIÁVEIS	Sim	Não	Não Sei Responder	Não Há
a) os computadores são protegidos por senha.	()	()	()	()
b) os computadores fazem uso de um mecanismo de tempo limite automáticos que bloqueia o computador.	()	()	()	()
c) existem níveis de permissão para acessar os registros eletrônicos entre funcionários em diferentes níveis operacionais e para usuários que não são funcionários do Setor de Pesquisa.	()	()	()	()
d) Os sistemas de computador com as informações de amostras biológicas e/ou de pesquisa contém um segundo HD ou outra forma de backup? OBS.: Se for "outra" especificar nesse campo: _____	()	()	()	()

POLITICAS DE AUDITORIA, TEMPO DE MANUTENÇÃO DE REGISTROS E TRANSFERÊNCIA DE MATERIAL BIOLÓGICO

22. Os registros estão prontamente acessíveis para inspeção por pessoal autorizado, em caso de auditoria ou outra?

- () Sim
 () Não
 () Não sei responder.
 () Não se aplica

23. O Setor de Pesquisa tem uma política em vigor que regula o período de tempo que os registros são mantidos?

Sim

Não

Não sei responder

Não se aplica

24. Para finalizar, deixe a sua opinião ou sugestão sobre a padronização de protocolo para guarda de material biológico em biorrepositórios do Hu-UFMA.

APÊNDICE C – PRODUTOS

**PROPOSTA DE MANUAL PARA COLETA, PROCESSAMENTO,
ARMAZENAMENTO E DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO
HUMANO VISANDO À CONSTITUIÇÃO DE BIORREPOSITÓRIOS**

Material produzido por

**Aluna: Maria Cláudia Santos Güttler/Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do
Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA, em parceria com a EBSERH**

Orientadora: Prof^a Dra Leila Beltrami Moreira

Co-orientadora: Profa. Dra. Rita da Graça Carvalhal Frazão Correa

GLOSSÁRIO

- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ABO – Tipos de sangue: A, B, AB e O.
- ACD – Ácido Cítrico e Citrato Dextrose
- Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- BPC – Boas Práticas Clínicas
- CD – Grupo de Diferenciação (do inglês *Cluster of Differentiation*)
- CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
- CLSI – Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (do inglês *Clinical and Laboratory Standards Institute*)
- CNEN – Comissão Nacional de Energia Nuclear
- CNS – Conselho Nacional de Saúde
- CO₂ – Gás Carbônico
- Conep – Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
- CPC – Centro de Pesquisa Clínica
- CPH – Células Progenitoras Hematopoéticas
- CPU – Unidade Central de Processos (do inglês *Central Process Unit*)
- CQ – Controle de Qualidade
- CTC – Centros de Tecnologia Celular
- GQ – Garantia da Qualidade
- DNA – Ácido Desoxirribonucléico (do inglês *Deoxyribonucleic Acid*)
- EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (do inglês *Ethylenediamine Tetraacetic Acid*)
- FMEA – Análise de Modos de Falhas e Efeitos
- LED – Diodo Emissor de Luz (do inglês *Light Emitting Diode*)
- HBV – Vírus da Hepatite B (do inglês *Hepatitis B Virus*)
- HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- HCV – Vírus da Hepatite C (do inglês *Hepatitis C Virus*)
- HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês *Human Immunodeficiency Virus*)
- Iarc – Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (do inglês *International Agency for Research on Cancer*)
- ID – Identificador Único
- Isber – Sociedade Internacional de Repositórios Biológicos e Ambientais (do inglês *International Society for Biological and Environmental Repositories*)

ISO – Organização Internacional de Normalização (*International Organization for Standardization*)

K – Potássio

LN₂ – Nitrogênio Líquido

ML – Medicina Laboratorial

MS – Ministério da Saúde

MTE – Ministério do Trabalho e Emprego

NBR – Norma Brasileira

NR – Norma Regulamentadora

OMS – Organização Mundial da Saúde

PCR – Reação de Polimerase em Cadeia

PDCA – Planejar, Executar, Verificar, Agir

PGRSS – Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde

POP – Procedimento Operacional Padrão

RCF – Força Centrífuga Relativa

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RH – Recursos Humanos

RNA – Ácido Ribonucléico (do inglês *Ribonucleic Acid*)

RPM – Rotação Por Minuto

RSS – Resíduos de Serviços de Saúde

PPP – Plasma Pobre em Plaquetas

SBPC – Sociedade Brasileira de Patologia Clínica

Sprec – Código PREanalítico Padrão (*Standard PREanalytical Code*)

SWOT – Forças, Oportunidades, Fraquezas e Ameaças (do inglês *Strengths, Weaknesses, Opportunities Threats*)

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

WHO – Organização Mundial da Saúde (do inglês *World Health Organization*)

VHS – Velocidade de Hemossedimentação

LISTA DE QUADROS

Quadro 01 – Informações sobre as características dos tubos para coleta quanto à: cor de tampa; tipo de tubo; aditivos presentes, e tipo de análise indicada para a amostra a ser coleta-da....	104
Quadro 2 – Informações do fabricante que devem constar no tubo de coleta	110
Quadro 3 – Etapas que os profissionais de saúde devem cumprir para diminuir as falhas pré-analíticas	116
Quadro 4 – Número de inversões dos tubos durante o processo de homogeneização após a coleta.....	118
Quadro 5 – Técnicas adicionais para auxiliar na coleta.....	119
Quadro 06 – Tempo mínimo de retração de coágulo recomendado antes da centrifugação dos diferentes tubos para obtenção de soro.....	126
Quadro 07 – Tempo de centrifugação e força centrífuga relativa estimada para a centrifugação de diversos tipos de tubos.....	129
Quadro 8 – Alguns cuidados a serem seguidos durante a centrifugação dos tubos de coleta.....	130
Quadro 9 – Padrões de preservação mais comumente aceitos para tecidos humanos e fluidos corporais	132
Quadro 10 – Recomendações para armazenagem de sangue total, plasma, soro e células brancas.....	133
Quadro 11 – Alguns cuidados especiais que devem ser mantidos para garantir a estabilidade dos espécimens dentro dos padrões aceitáveis, quando na etapa de descongelamento.....	134
Quadro 12 – Requisitos para armazenamento de material biológico.....	135

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Técnica de punção venosa utilizando seringa e agulha.....	106
Figura 2 – Técnica de punção venosa utilizando agulha de duas pontas, com a parte distal conectada a um adaptador de tubo á vácuo	106
Figura 3 – Técnica de punção venosa utilizando agulha de duas pontas. O tubo a vácuo foi introduzido no adaptador da parte distal da agulha e impelido em direção à mesma, forçando à aspiração do sangue	106
Figura 4 - Sequência de tubos a vácuo, de vidro e de plásticos, de acordo com os sentidos das setas, para coleta de sangue venoso	109
Figura 5 – Veias do membro superior	111
Figura 6 – Veias do dorso da mão	111
Figura 7 – Passo a Passo de Higienização das Mãos	114
Figura 8 – Quatro amostras de soros, da esquerda para a direita: a primeira apresenta-se normal; a segunda, hemolisada; a terceira apresenta-se com uma cor mais intensa quando comparada com a normal, indicando icterícia; a quarta indica lipemia.....	115
Figura 9 – Movimento de inversão dos tubos durante a homogeneização.....	118
Figura 10 – Amostra com diferentes graus de hemólise	120
Figura 11 – Principais Causas de Hemólises Relacionadas à Coleta	121
Figura 12 – Tubo sem anticoagulante, centrifugado, mostrando os glóbulos vermelhos, os glóbulos brancos (lucócitos) e plasma.....	123
Figura 13 – Centrífuga de Bancada de Laboratório. Marca: celm. Modelo: LS3 PLUS. Fabricante: Sarstedt	128
Figura 14 – Rotor e caçamba de uma centrífuga de bancada. Marca: SPINLAB. Modelo TH – 2050 R. Fabricante BioTek.....	128
Figura 15 – Rotor de centrífuga de ângulo fixo, modelo DT-4000. Marca: Daiki. (À esquerda); e ângulo móvel, modelo SMV 6. Fabricante: Sarstedt (à direita)	128
Figura 16 – Refrigerador para armazenamento em temperaturas entre 2 a 8°C – Modelo RC430D. Fabricante: Idndrel Scientific	137
Figura 17 – Congelador mecânico para armazenamento em baixas temperaturas – Modelo 88400D. Fabricante: Thermo Scientific	138
Figura 18 – Congelador de nitrogênio líquido para ultrabaixa temperatura – Modelo: BCIV40. Fabricante: SP Scientific	138

- Figura 19** – Freezer mecânico modelo DW-86L388J. Fabricante: Haier Biomedical. Um cilindro contendo nitrogênio líquido refrigerante está conectado ao freezer, à direita. Na parte frontal do freezer está instalado o painel de sistema backup e a parte superior, contém o interruptor de energia de reserva 143
- Figura 20** – Acesso magnético por meio de crachá de funcionário autorizado – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (2016) 146
- Figura 21** – Freezers do Centro Compartilhado de Material Biológico do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/HCPA (2016) 153
- Figura 22** – Monitor de computador (à esquerda) mostrando Planilha em Excel contendo o registro de ID das coleções de amostras de dois tipos de Biorrepositórios, e Leitor de Código de Barras (à direita) para rastreabilidade das amostras no HCPA (2016)..... 153

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	97
2. COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO	98
2.1 Preparo para Coleta	98
2.2 Identificação das Amostras.....	100
2.3 Escolha dos Insumos	101
2.4 Recomendações Internacionais da Sequência dos Tubos a Vácuo na Coleta de Sangue Venoso	107
2.5 Evidenciação e Escolha da Veia.....	110
2.6 Procedimentos de Higienização e Antissepsia para a Coleta de Sangue.....	112
2.7 Realização da Venopunção para Coleta de Sangue.....	115
2.8 Homogeneização Para Tubos de Coleta de Sangue.....	117
2.9 Dificuldade para a coleta da amostra de sangue.....	119
2.10 Considerações Importantes Sobre Hemólise	119
3. PROCESSAMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO.....	121
3.1 Componentes Sanguíneos.....	121
3.2 Tempo e rotação para centrifugação das amostras	129
4. ARMAZENAMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO	132
4.1 Recipientes de armazenamento.....	135
4.2 Equipamentos para guarda de material biológico.....	136
5. DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO.....	138
6. INSTALAÇÕES DAS ÁREAS PARA ARMAZENAMENTO DOS BIORREPOSITÓRIOS	139
7. SISTEMA DE SEGURANÇA E MANUTENÇÃO DOS EQUIPAMENTOS	144
8. RECURSOS HUMANOS	148
9. REGISTRO, IDENTIFICAÇÃO E RASTREABILIDADE DAS AMOSTRAS ARMAZENADAS E INFORMAÇÕES ASSOCIADAS	148
9.1 Registro.....	148
9.2 Identificação	150
9.3 Rastreabilidade	154
10. CONTROLE DE QUALIDADE	155
11. PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO (POPS).....	156
REFERÊNCIAS	158

APÊNDICES	161
APÊNDICE A - PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO GERAL PARA COLETA DE SANGUE NOS SETORES DE PESQUISAS DO HU-UFMA	162
APÊNDICE B - PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO GERAL PARA PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRA DE SANGUE	170
APÊNDICE C - PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO COM INSTRUÇÕES GERAIS PARA EXTRAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS: DNA e RNA	178
APÊNDICE D – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLETA, PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE TECIDO OBTIDO A PARTIR DE PEÇA CIRÚGICA E DE BIÓPSIA PARA UTILIZAÇÃO EM PESQUISAS DO HUUFMA	185
APÊNDICE E - FORMULÁRIO DE REGISTRO DE COLETA DE SANGUE.....	197
APÊNDICE F – FORMULÁRIO DE REGISTRO DE PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRA SANGUÍNEA	199
APÊNDICE G - FORMULÁRIO DE REGISTRO DE EXTRAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS: DNA E RNA	201
APÊNDICE H - FORMULÁRIO DE REGISTRO DE COLETA DE AMOSTRA DE TECIDO.....	203
APÊNDICE I - FORMULÁRIO DE REGISTRO DE TRANSPORTE, PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRA DE TECIDO.....	204
APÊNDICE J – MODELO DE FORMULÁRIO, VISANDO A CRIAÇÃO DO SISTEMA DE CADASTRO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA E GERAÇÃO DO ID (IDENTIFICADOR ÚNICO) DO PARTICIPANTE.....	207
APÊNDICE K – MODELO DE FORMULÁRIO, VISANDO A CRIAÇÃO DO SISTEMA DE CADASTRO DA AMOSTRA BIOLÓGICA E GERAÇÃO DO ID (IDENTIFICADOR ÚNICO) DA AMOSTRA ARMAZENADA	211

1. INTRODUÇÃO

Trata de um manual sobre coleta, processamento e armazenamento de material biológico humano que constitui os biorrepositórios de pesquisas.

Biorrepositório consiste em coleção organizada de material biológico humano e informações associadas, coletado e armazenado para fins de pesquisa, conforme regulamento ou normas técnicas, éticas e operacionais pré-definidas, sob-responsabilidade e gerenciamento institucional dos materiais armazenados, sem fins comerciais. (BRASIL, 2011a, p. 2).

Para a elaboração deste documento, além de consulta em literatura sobre o tema, esse trabalho foi embasado nas seguintes referências normativas (todas as referências encontram-se integralmente descritas no final deste documento):

Nacionais – Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR ISO 9000:2005; RDC ANVISA nº 33/2006; RDC ANVISA nº 56/2010; RDC ANVISA nº 306/2006; RDC ANVISA nº 09/2011; RDC ANVISA nº 55/2015; Portaria MS nº 2.201/2011; Norma Regulamentadora 32 MTE/2011; Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML).

Internacionais – CLSI/NCCLS/2003; ISBER/2012; OMS/2005; WHO-IARC.

A coleta, armazenamento e descarte de material biológico humano em biorrepositório se dá mediante o consentimento livre e esclarecido do participante da pesquisa, formalizado por meio de termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) específico para cada pesquisa, conforme o que preconizam a resolução nº 441/2011 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) que aprova as diretrizes para análise ética de projetos de pesquisas que envolvam armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas anteriores, e a Portaria nº 2.201/2011 do Ministério da Saúde que estabelece as Diretrizes Nacionais para Biorrepositório e Biobanco de Material Biológico Humano com Finalidade de Pesquisa – formalizando, portanto, as definições e práticas de Biobanco e Biorrepositórios.

Cada instituição pode estabelecer sua política para escolha da técnica de coleta, processamento e armazenamento de material biológico. Isto perpassa pelo objetivo da pesquisa, o tipo de clientela, a habilidade dos profissionais envolvidos, as características da instituição e os custos financeiros. Após definição, as técnicas devem estar em instruções escritas e atualizadas, com protocolos definidos e validados, sempre atendendo às especificações contidas nas resoluções vigentes.

Durante as etapas de coleta, processamento e armazenamento do material biológico, as variáveis pré-analítica, também, devem ser observadas para garantir que as características da qualidade da amostra sejam mantidas.

Este manual poderá servir de instrumento aos pesquisadores e instituições na escolha de técnicas mais adequadas para a coleta de material biológico visando a constituição de biorrepositórios.

2. COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

O procedimento para aquisição de material biológico para a pesquisa clínica deve levar em conta o comportamento dos espécimes biológicos a fim de manter a qualidade da amostra, como por exemplo, a estrutura das proteínas, a função das enzimas, o nível de metabolitos, os níveis de expressão gênica, as funções do DNA, a viabilidade celular e viabilidade dos microorganismos.

Nos processos de coleta, as instituições de saúde devem observar o que preconiza a Portaria nº 2.201 do MS:

Os procedimentos de assistência à saúde têm preferência sobre a coleta e utilização de material biológico humano para fins de pesquisa, cabendo, para esta última, a manipulação do material excedente; a coleta será realizada, sempre que possível, de forma conjunta com os procedimentos necessários para diagnóstico e tratamento, salvo quando se tratar de coleta prospectiva para fins de pesquisa aprovada previamente pelo CEP e, quando for o caso, pela C O N E P; e quando o material biológico não for procedente de atividades assistenciais, somente é cabível a coleta das partes renováveis integrantes do corpo humano (BRASIL, 2011c, p.5).

Além disso, vários processos inerentes à etapa da coleta devem ser cumpridos para a obtenção de bons resultados analíticos. Embora esta abordagem seja bem mais ampla e os procedimentos intrínsecos aos objetivos e métodos utilizados em cada pesquisa, via de regra, têm-se: preparo para coleta; identificação das amostras; escolha dos insumos; evidenciação e escolha da veia; e venopunção. A seguir será abordado com mais detalhe estas etapas.

2.1 Preparo para Coleta

Para a SBPC (2010), são referidas como variáveis pré-analíticas as seguintes condições do paciente:

- **Variação cronobiológica:**

Corresponde às alterações cíclicas na concentração de um determinado parâmetro em função do tempo. O ciclo de variação pode ser diário, mensal, sazonal, anual etc., por exemplo, as coletas realizadas à tarde fornecem resultados até 50% mais baixos do que os obtidos nas amostras coletadas pela manhã, a concentração de aldosterona é cerca de 100% mais elevada na fase pré-ovulatória do que na fase folicular. (SBPC, 2010, p. 2).
- **Sexo:**

Diferenças hormonais e alguns outros parâmetros sanguíneos e urinários se apresentam em concentrações significativamente distintas entre homens e mulheres em decorrência das diferenças metabólicas e da massa muscular, entre outros fatores”. (SBPC, 2010, p. 3).
- **Idade:**

Alguns parâmetros bioquímicos possuem concentração sérica dependente da idade do indivíduo. Essa dependência é resultante de diversos fatores, como maturidade funcional dos órgãos e sistemas, conteúdo hídrico e massa corporal. (SBPC, 2010, p. 3).
- **Posição:**

Mudança rápida na postura corporal pode causar variações na concentração de alguns componentes séricos, conseqüentemente os níveis de albumina, colesterol, triglicérides, hematócrito, hemoglobina, de drogas que se ligam às proteínas e o número de leucócitos podem ser superestimados. (SBPC, 2010, p. 3).
- **Atividade física:**

O esforço físico pode causar aumento da atividade sérica de algumas enzimas como a creatinaquinase, a aldolase e a asparato aminotransferase, pelo aumento da liberação celular. Esse aumento pode persistir por 12 a 24 horas após a realização de um exercício (SBPC, 2010, p. 4).
- **Jejum:**

O período de jejum para coleta vai depender do objetivo das análises, e da idade do participante, em geral, devem ser evitadas coletas de sangue após períodos muito prolongados de jejum – acima de 16 horas. O período habitual para a coleta de rotina é de 8 horas, podendo ser reduzido a 4 horas, para a maioria dos exames e, em situações especiais, tratando-se de crianças de baixa idade, pode ser de 1 ou 2 horas apenas, isto porque as concentrações de determinadas substâncias no sangue se alteram após as refeições, por períodos variáveis, o que pode interferir em algumas metodologias. (SBPC, 2010, p. 4).

- Dieta:

“A dieta a que o indivíduo está submetido, mesmo respeitado o período regulamentar de jejum, pode interferir na concentração de alguns componentes, na dependência das características orgânicas do próprio paciente”. (SBPC, 2010, p. 4).

- Uso de drogas para fins terapêuticos ou não:

Dentre os efeitos fisiológicos, devem ser citadas a indução e a inibição enzimáticas, a competição metabólica e a ação farmacológica. Dos efeitos analíticos são importantes a possibilidade de ligação preferencial às proteínas e eventuais reações cruzadas. (SBPC, 2010, p. 4).

A equipe de pesquisa deve disponibilizar ao participante ou seu responsável legal, instruções escritas e verbais, em linguagem acessível, orientando sobre o preparo e coleta de amostras e, antes de coletar, devem ser anotados as condutas do participante diante de tais orientações.

2.2 Identificação das Amostras

Para qualquer coleta realizada, é fundamental a identificação correta do participante e dos recipientes aonde será colocado o material coletado. A instituição deve desenvolver sua própria forma de estabelecer um vínculo seguro e indissociável entre o participante e o material colhido para que, ao final, seja garantida a rastreabilidade de todo o processo, e dispor de instruções escritas que orientem a coleta e identificação de amostra.

Sempre que possível, o material colhido deve ser identificado na presença do participante da pesquisa, no momento da coleta. O posto de coleta laboratorial deve solicitar ao participante documento que comprove a sua identificação para o cadastro.

Caso haja necessidade de colocar uma etiqueta extra no recipiente para coleta, esta não pode cobrir a etiqueta contendo as informações do fabricante e nem deve circundar completamente o recipiente, pois os técnicos devem ter uma boa visualização do material coletado no momento da avaliação e processamento da amostra.

Para garantir que os resultados obtidos após análise da amostra sejam avaliados corretamente, o laboratório deve identificar corretamente o participante e registrar algumas informações relevantes para a pesquisa, tais como:

- Número de registro de identificação do participante gerado pelo Setor;
- Nome do participante;
- Data de nascimento, sexo e procedência do participante da pesquisa;
- Telefone e/ou endereço do participante, quando aplicável;

- Nome e contato do responsável em caso de menor de idade ou incapacitado;
- Data e hora do atendimento;
- Horário da coleta;
- Exames solicitados e tipo de amostra;
- Responsável pela coleta;
- Descrição do procedimento;
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
- Quando necessário: informações adicionais, em conformidade com o exame (medicamento em uso, dados clínico-laboratoriais, dentre outros de relevância).

2.3 Escolha dos Insumos

A escolha de insumos (tubos, seringas e agulhas) para a coleta de sangue deve priorizar alguns critérios básicos: qualidade nos resultados das análises; segurança ao profissional que manuseia o produto, reduzindo riscos de acidentes de trabalho; e segurança no atendimento ao paciente.

Seguindo essas premissas a SBPC (2010) alerta para a necessidade de evidenciar o lote, data de validade e data de uso dos tubos, seringas e agulhas para uma posterior rastreabilidade, se necessário. Os tubos para coleta de sangue, por exemplo, contêm diferentes características, sendo a presença de diferentes aditivos e em dosagens diferenciadas em suas paredes, a mais marcante, pois se adequam à amostra a ser coletada e tipo de análise. Aditivo é “qualquer substância colocada em um recipiente de coleta para facilitar uma função pretendida, por exemplo, para induzir ou evitar a coagulação do sangue ou para preservar o material coletado” (CLSI, 2003, p. 2). Podem apresentar-se fisicamente em várias formas, como “solução, solução de spray seco, liofilizado ou pó” (SBPC, 2010, p 94).

Os intervalos de concentração permitem diferentes raios de solubilidade e difusão dessas várias formas:

- **Tubo com ativador/acelerador de coágulo com ou sem gel separador:** os tubos contendo aditivo ativador de coágulo são revestidos com “material usado para iniciar o mecanismo de coagulação” ou acelerar o fator de coagulação “quando contém o acelerador de coágulo” (CLSI, 2003, p. 2). Alguns destes podem conter gel no fundo. Este material possui propriedade tireotrópica, quando o “gel migra para cima durante a centrifugação, posicionando-se entre o soro e o coágulo, onde forma uma barreira que separa o soro da fibrina e das células coaguladas” (SBPC, 2014, p. 23). Assim, o soro é obtido com mais qualidade, proporcionando

melhor eficiência no processo de trabalho dentro do laboratório. São utilizados para obtenção de soro nas análises bioquímica e sorológica.

- **Tubo com anticoagulante (EDTA):** aqui, como descreve a CLSI (2003, p. 11), os anticoagulantes têm o papel de interromper a ativação da cascata de coagulação, inibindo a formação da protrombina, impossibilitando a formação do coágulo. De acordo com a SBPC (2014, p. 24) são indicados para testes que requerem sangue total ou plasma nas análises imunohematológicas, CD4+ /CD8+, carga viral, genotipagem e citologia. “O EDTA é o melhor anticoagulante para preservar a morfologia celular” (CLSI, 2003, p. 11).

- **Tubo com de citrato de sódio:** segundo a CLSI (2003, p. 24) este aditivo é utilizado para obtenção de sangue total para dosagem dos testes de coagulação, pois a remoção do cálcio do complexo protrombinase impede a conversão da protrombina em trombina, sendo estes efeitos bem significativos em diferentes concentrações de citrato de sódio contidas na parede dos tubos.

- **Tubo com citrato de sódio para velocidade de hemossedimentação (VHS):** de acordo com as recomendações da SBPC (2014, p. 24) os tubos contendo este aditivo são utilizados para obtenção de sangue total para medir a velocidade da separação entre os glóbulos vermelhos e o plasma e devem-se aspirar quatro partes de sangue adicionadas a uma parte de citrato trissódico.

- **Tubo com heparina com ou sem gel separador:** “são utilizados para a obtenção de sangue total e plasma nas análises bioquímicas e genéticas, pois ativam as enzimas antiplaquetárias, bloqueando a cascata de coagulação” SBPC (2014, p. 24). Deve-se evitar o uso deste tipo de anticoagulante nos testes moleculares, pois a SBPC (2010, p. 85) coloca que a heparina inibe fortemente a reação de polimerase em cadeia (PCR).

- **Tubo com Fluoreto de sódio/ EDTA:** de acordo com a SBPC (2014, p. 25), estes tubos contêm ejetados em sua parede um anticoagulante EDTA que preserva a morfologia celular e fluoreto de sódio que é inibidor glicolítico estabilizando a glicose. É utilizado para obtenção de plasma na dosagem de glicose e lactato.

“A ejeção de aditivos na concentração adequada nos tubos de coleta de sangue aumenta a uniformidade e a exatidão dos resultados dos exames e a produtividade do laboratório”. (SBPC, 2014, p. 22).

Além dos tubos com aditivos, os laboratórios utilizam para coleta:

- **Tubo com Anticoagulantes Ácido Cítrico e Citrato Dextrose – ACD:** Recomendado pela SBPC (2014, p. 25) quando requer obtenção de sangue total ou plasma,

sendo usado para imunofenotipagem, cultura celular e testes que necessitam de células vermelhas.

- **Frasco de Hemocultura:** a SBPC (2014, p. 23) descreve que existem dois tipos de frascos: os aeróbios, utilizados na detecção de bactérias aeróbias e leveduras; e os frascos anaeróbios, utilizados na detecção de bactérias anaeróbia. Estes frascos contêm meio líquido de soja-caseína enriquecido com CO₂ (gás carbônico) e outros suplementos, conforme o tipo de frasco, específicos para isolamento de microorganismo.

Os tubos para coleta de sangue são fabricados em vidro ou plástico. As restrições quanto ao tubo de vidro residem na possibilidade de quebrar durante o transporte, manuseio e armazenamento em baixas temperaturas (0°C ou abaixo desta), aumentando os riscos de contaminação. A coleta em tubo plástico é mais recomendada por razões de biossegurança, pois evita quebras e conseqüentemente, contaminação. No geral, não há diferença para a coleta realizada nestes dois tipos de tubos, exceto para contagem de plaquetas, pois “a agitação no tubo de vidro com EDTA promove a agragação plaquetária, interferindo no resultado do exame, já no tubo em plástico não há ativação da cascata de coagulação pelo fator contato” (SBPC, 2014, p. 139), sendo este o tubo mais recomendado para contagem de plaquetas.

A maioria dos fabricantes segue uma padronização de cores nas tampas dos tubos para coleta, indicando seu aditivo, no intuito de evitar os erros pré-analíticos na coleta laboratorial (Quadro 03). Embora tenha aplicação universal, a SBPC (2014, p. 92) esclarece que não existe um acordo internacional de codificação por cores, pelo menos até o momento.

Quadro 01 – Informações sobre as características dos tubos para coleta quanto à: cor de tampa; tipo de tubo; aditivos presentes, e tipo de análise indicada para a amostra a ser coletada.

COR DE TAMPA	TIPO DE TUBO	ADITIVO PRESENTE	AMOSTRA REQUERIDA	TIPO DE ANÁLISE
Vermelha	- Vidro	Tubo siliconizado/seco	Soro	Bioquímica ou Sorológica
Amarela/Laranja	- Vidro - Plástico	Ativador de Coágulo (amarela) /Acelerador de Coágulo (laranja) /Com gel separador	Soro	Bioquímica ou Sorológica, imunologia e hormônios
Vermelha	- Plástico	Ativador de coágulo, sem gel separador	Soro	Bioquímica ou Sorológica podem ser utilizados também para tipagem ABO, RH, pesquisa de anticorpos e outros
Azul	- Vidro - Plástico	Anticoagulante citrato de sódio	Sangue Total/Plasma	Coagulação
Preta	- Vidro - Plástico	Anticoagulante Citrado de sódio	Sangue total	Hematológica / Velocidade de Hemossedimentação / VHS
Verde	- Vidro - Plástico	Anticoagulante Heparina/com ou sem gel separador	Sangue Total/Plasma	Bioquímica, gasometria e genética
Roxa	- Vidro - Plástico	Anticoagulante EDTA K2 ou K3	Sangue total/Plasma	Imunologia, hematológica e testes moleculares
Cinza	- Vidro - Plástico	Anticoagulantes Fluoreto + EDTA	Sangue Total/Plasma	Glicêmica e Lactato
Amarela	- Vidro	Anticoagulante Ácido Cítrico, Citrato, Dextrose – ACD	Sangue Total/Plasma	Imunofenotipagem, cultura celular e testes que necessitam de células vermelhas.

Fonte: Adaptado de SBPC: Recomendações Para Coleta de Sangue Venoso (2010, p. 91).

A coleta de sangue venoso com seringa e agulha (Figura 3) e posterior transferência para o tubo de coleta (também conhecida como sistema aberto de coleta) é a técnica mais antiga e, devido à habilidade no manuseio pela maioria dos profissionais, aliada ao fato de terem um baixo custo, ainda é a mais utilizada na área de saúde. Entretanto, para a SBPC (2010, p. 28), esta técnica pode causar potenciais erros pré-analíticos, como a possibilidade de contaminação, criação de coágulos, fibrina e hemólise na etapa de transferência do sangue para os tubos, tendo em vista que a subjetividade deste passo pode induzir o técnico transferir amostra acima ou abaixo da capacidade dos recipientes, causando alteração na proporção correta de

sangue/aditivo. Adicionalmente, é um procedimento de risco para o profissional de saúde que, além de manusear o sangue durante a transferência, deve também descartar, de maneira segura, o dispositivo perfurocortante em descartador adequado, como determina a NR32 do Ministério de Estado do Trabalho e Emprego.

Mais recente foi criado um tubo contendo em seu interior vácuo calibrado, constituindo o sistema de coleta de sangue a vácuo (também conhecido como sistema fechado de coleta). Através de uma agulha de duas pontas (uma ponta a ser introduzida na veia, a outra para ser conectada ao adaptador de tubo aonde será colocado o tubo para coleta a vácuo) que se conecta diretamente ao tubo de análise é possível aspirar o sangue diretamente da veia ao recipiente (Figuras 4 e 5). O vácuo “é calibrado proporcionalmente ao volume de sangue informado na etiqueta externa do tubo” (SBPC, 2010, p. 27), desta forma, durante a coleta vai ser aspirado para dentro do tubo, exatamente o volume indicado na etiqueta, quando atingir o volume indicado o sangue pára, automaticamente, de fluir.

Dentre as vantagens da utilização de coleta de sangue a vácuo, a SBPC (2010, p. 27) enumera algumas: permite facilidade no manuseio, diminuindo potenciais riscos de contaminação e acidentes durante o procedimento; existem diversos calibres de agulhas adequando-se ao calibre da veia que será puncionada; com uma única punção venosa pode-se, rapidamente, colher vários tubos quando solicitados; e a quantidade de aditivo ejetado no tubo é proporcional ao volume de sangue a ser aspirado.

O sistema de túbulo a vácuo tornou-se o mais recomendado segundo a CLSI (2003) devido à biossegurança nesta técnica e maior garantia de qualidade na fase pré-analítica, contribuindo para bons resultados de pesquisa. No Brasil, esta técnica atende integralmente às exigências da Norma Regulamentadora 32 (NR32), que “tem por finalidade estabelecer as diretrizes básicas para a implementação de medidas de proteção à segurança e a saúde dos trabalhadores dos serviços de saúde” (Brasil, 2011b, p. 1).

Figura 1 – Técnica de punção venosa utilizando seringa e agulha.



Fonte: Bain (2016, p. 3).

Figura 2 – Técnica de punção venosa utilizando agulha de duas pontas, com a parte distal conectada a um adaptador de tubo á vácuo.



Fonte: Bain (2016, p. 3).

Figura 3 – Técnica de punção venosa utilizando agulha de duas pontas. O tubo a vácuo foi introduzido no adaptador da parte distal da agulha e impelido em direção à mesma, forçando à aspiração do sangue.



Fonte: Bain (2016, p. 3).

2.4 Recomendações Internacionais da Sequência dos Tubos a Vácuo na Coleta de Sangue Venoso

Existe uma real possibilidade de contaminação com aditivos de um tubo para outro no momento da coleta, seja durante a troca dos tubos a vácuo ou durante a transferência de sangue da seringa para o tubo de análise, na coleta com seringa e agulha. Essa contaminação numa coleta de sangue venoso pode ocorrer quando:

Na coleta de sangue a vácuo, o sangue do paciente pode entrar no tubo e se misturar ao ativador de coágulo ou anticoagulante, contaminando a agulha distal (agulha que irá se conectar ao adaptador de tubos, recoberta pela manga de borracha da agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo) quando ela penetrar a rolha do tubo; na coleta com seringa e agulha, pelo contato da ponta da seringa com o anticoagulante ou ativador de coágulo na parede do tubo, quando o sangue for colocado dentro do tubo. (SBPC, 2010, p. 38).

Um exemplo de possível contaminação citado pela SBPC (2014, p. 17) é coletar um tubo contendo aditivo de heparina (anticoagulante natural) antes do aditivo citrato de sódio (utilizado para coagulação), pois poderá levar a heparina para dentro do segundo tubo, interferindo nos resultados dos fatores de coagulação. Nesta abordagem, merece uma atenção especial à introdução no mercado dos tubos em plásticos para soro, de tampa vermelha, contendo ativador de coágulo em seu interior, sendo que antes existia apenas o de vidro siliconizado seco com tampa vermelha, sem ativador de coágulo. A SBPC (2010, p. 39), explica ainda que, os tubos de plástico para soro, de tampa amarela e vermelha, contendo ativador de coágulo em seu interior, devem ser colhidos depois do tubo para coagulação (tampa azul), pois uma possível contaminação com o componente coagulante pode alterar os resultados dos testes de coagulação. Já o tubo de vidro, de tampa vermelha, pode ser colhido normalmente antes dos tubos para coagulação (tampa azul), pois não possuem ativador de coágulo.

Considerando estes cuidados especiais a CLSI (2003, p. 17) propôs a sequência de tubos para coleta (Figura 6), para que não ocorra contaminação cruzada por aditivos nos tubos subsequentes.

Sequência de coleta de sangue venoso, recomendada pela CLSI (2003) para tubos de plástico:

1. Frascos para hemocultura.
2. Tubos para testes de coagulação (por exemplo, com citrato, de tampa azul).
3. Tubos para soro com ativador de coágulo, com ou sem gel separador (tampa vermelha ou amarela).
4. Tubos com heparina com ou sem gel separador de plasma (por exemplo, tampa verde).

5. Tubos com EDTA (tampa roxa).
6. Tubos contendo inibidor glicolítico (por exemplo, com fluoreto, tampa cinza).

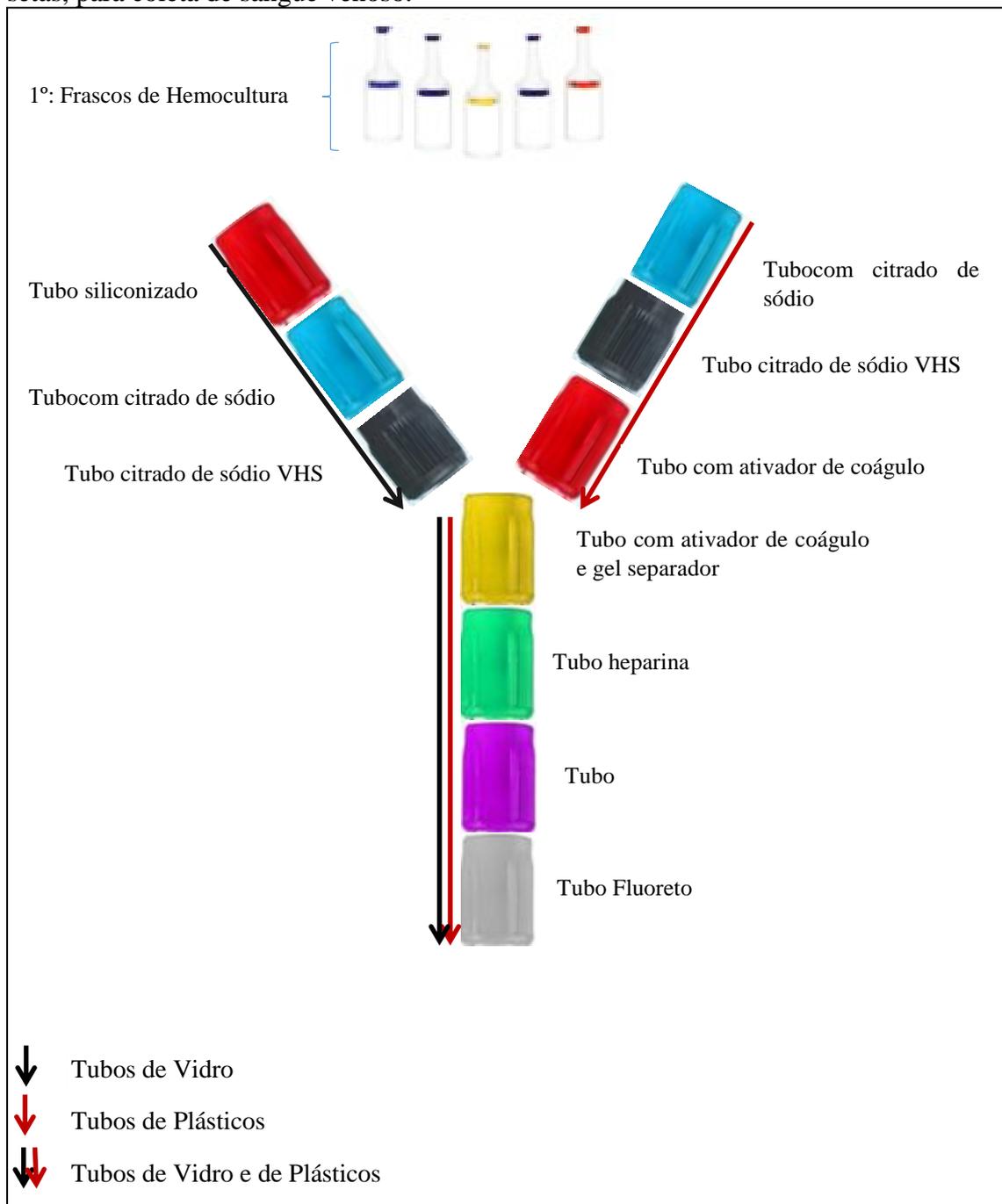
Sequência de coleta de sangue venoso, recomendada pela CLSI (2003), para tubos de vidro:

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

Caso haja coleta nos frascos de hemoculturas (exame para detectar a presença de bactérias e/ou fungos na corrente sanguínea), estes “devem ser coletados primeiro” (SBPC 2014, p. 170). Faz-se a coleta do sangue em seguida transfere-o para as garrafas de hemocultura, que contêm meios de culturas próprios para o crescimento de micro-organismos.

A SBPC (2010) alerta que a alteração na sequência dos tubos, pode ocasionar a contaminação no tubo subsequente e conseqüentemente gerar resultados alterados nos analíticos sensíveis a este tipo de interferência.

Figura 4 - Sequência de tubos a vácuo, de vidro e de plásticos, de acordo com os sentidos das setas, para coleta de sangue venoso.



Fonte: Adaptado de SBPC: Recomendações Para Coleta de Sangue Venoso (2010, p. 115).

Vale salientar que, para que haja um adequado controle de qualidade pelo Setor de Pesquisa, os fabricantes devem disponibilizar as informações na etiqueta do tubo de coleta, conforme disponíveis no Quadro 2.

Quadro 2 – Informações do fabricante que devem constar no tubo de coleta.

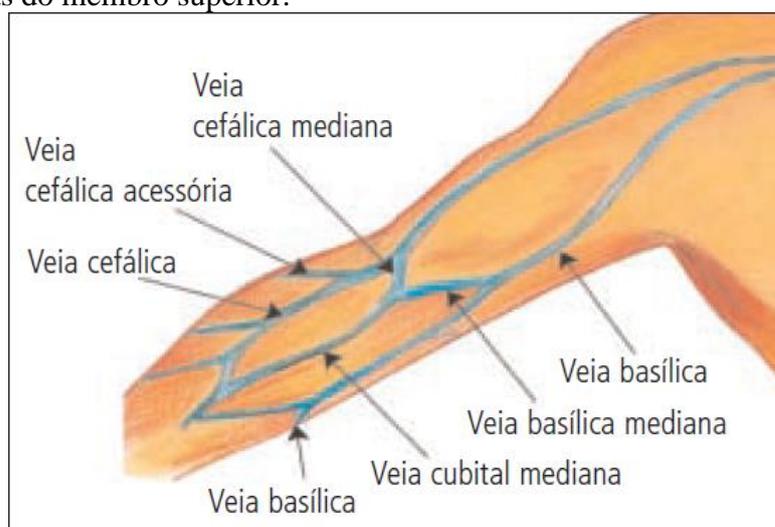
- Marca do fabricante/fornecedor ou marca registrada.
- Número do lote.
- Código do aditivo ou descrição do conteúdo.
- Data de validade.
- Volume nominal.
- Linha de preenchimento.
- A palavra “estéril”, se o fabricante garantir que o interior do tubo, antes de ser aberto, é estéril.
- As palavras “produto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

Fonte: SBPC (2010, p. 92).

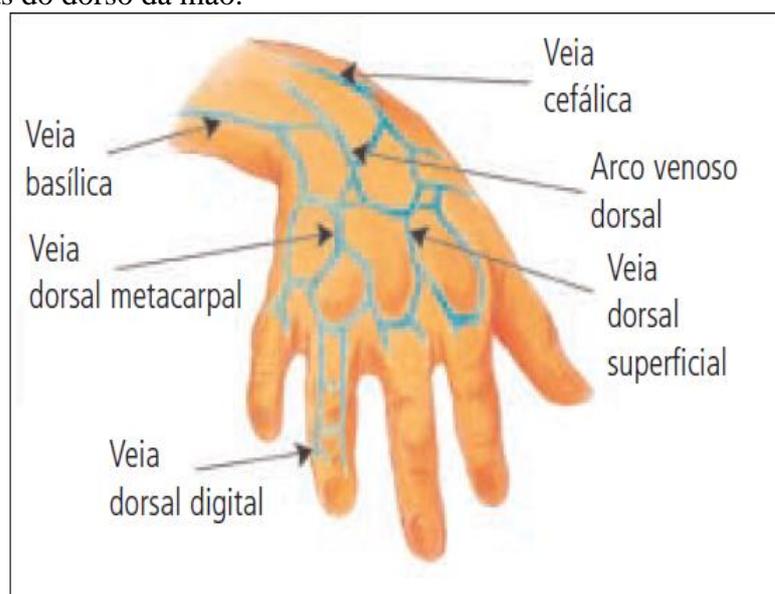
2.5 Evidenciação e Escolha da Veia

Existem diversos locais que podem ser escolhidos para a venopunção. A SBPC (2010, p. 18) explica que o local de preferência para a coleta de sangue são as veias cubitais medianas e cefálicas (Figura 7) localizadas na fossa antecubital, na área anterior do braço em frente e abaixo do cotovelo. Nessa acepção, a CLSI (2003, p. 12) esclarece que a preferência por estas veias se deve ao fato de estarem relativamente próximas à superfície da pele, consequentemente, são menos doloridas na inserção da agulha e menos propensa a lesionar os nervos se a colocação da agulha não for precisa. A SBPC (2010, p. 18) observa que: “dentre elas, a veia cefálica é a mais propensa à formação de hematomas e pode ser dolorosa ao ser puncionada”.

Quando as veias da fossa antecubital não puderem ser utilizadas, a coleta pode ser feita nas veias do dorso da mão (Figura 8), “sendo mais recomendado o arco venoso dorsal por ser mais calibroso [...], sendo que as veias na parte inferior do punho não devem ser utilizadas porque estão próximas aos nervos e tendões.” (SBPC, 2010, p. 18).

Figura 5 – Veias do membro superior.

Fonte: SBPC (2010, p. 19).

Figura 6 – Veias do dorso da mão.

Fonte: SBPC (2010, p. 19).

Devido à maior elasticidade e à maior espessura das paredes dos vasos arteriais, é possível fazer a distinção entre veias e artérias, sentindo a pulsação. Com esta idéia, a SBPC (2010) descreveu algumas técnicas para evidenciação das veias supracitadas:

- Pedir para o paciente abaixar o braço e fazer movimentos de abrir e fechar a mão, pois os movimentos de abertura das mãos reduzem a pressão venosa, com o relaxamento muscular.

- Massagear suavemente o braço do paciente (do punho para o cotovelo).

- Realizar a palpação com o dedo indicador do profissional. Evitar o uso do polegar devido à baixa sensibilidade da percepção da pulsação.
- Fixar as veias com os dedos, nos casos de flacidez.
- Quando disponível, utilizar o transiluminador cutâneo: equipamento de grande auxílio à localização de veias, pois emite uma ou duas fontes primárias de luz (a primeira, de alta intensidade; a segunda usa LED) no interior do tecido subcutâneo do paciente. O profissional deve fixar o garrote da maneira usual, deslizando o transiluminador pela pele, sempre aderindo à superfície para não haver dispersão de luz. As veias serão vistas como linhas escuras. Uma vez definido qual o melhor local para punção, o transiluminador é fixado na região escolhida, cuidando-se para que não atrapalhe o fluxo sanguíneo. (SBPC, 2010, p. 20).

O garrote ou torniquete “é utilizado para deixar a veia mais proeminente, facilitando a entrada da agulha”. (CLSI, 2003, p. 10). Porém, as seguintes precauções devem ser tomadas:

Os torniquetes devem ser descartados imediatamente quando forem contaminados com sangue ou fluidos corporais; quando a sua aplicação excede um minuto, pode ocorrer estase localizada, hemoconcentração e infiltração de sangue para os tecidos, gerando valores falsamente elevados para todos os analitos baseados em medidas de proteínas, alteração do volume celular e de outros elementos celulares; o uso inadequado pode levar à situação de erro diagnóstico (como hemólise, que pode tanto elevar o nível de potássio como alterar a dosagem de cálcio etc.), bem como gerar complicações durante a coleta (hematomas e formigamento). (SBPC, 2010, p. 21).

Ao utilizar o torniquete durante a coleta de sangue, o profissional deve estar atendo para as seguintes condutas:

Posicionar o braço do paciente, inclinándolo para baixo, a partir da altura do ombro; posicionar o torniquete com o laço para cima, a fim de evitar a contaminação da área de punção; ao garrotear, pedir ao participante que feche a mão para evidenciar a veia; não bater na veia com os dois dedos, pois esse tipo de procedimento provoca hemólise capilar e, portanto, altera o resultado de certos analitos; após a localização da veia, afrouxar o torniquete e esperar 02 minutos para utilizá-lo novamente; o torniquete não deverá ser usado em alguns testes como lactato ou cálcio, para evitar alteração no resultado; aplicar o torniquete de 7,5 a 10,0 cm acima do local da punção, para evitar a contaminação do local; não apertar intensamente o torniquete, pois o fluxo arterial não deve ser interrompido, o pulso deve permanecer palpável; não usar o torniquete continuamente por mais de 1 minuto. (SBPC, 2010, p. 22).

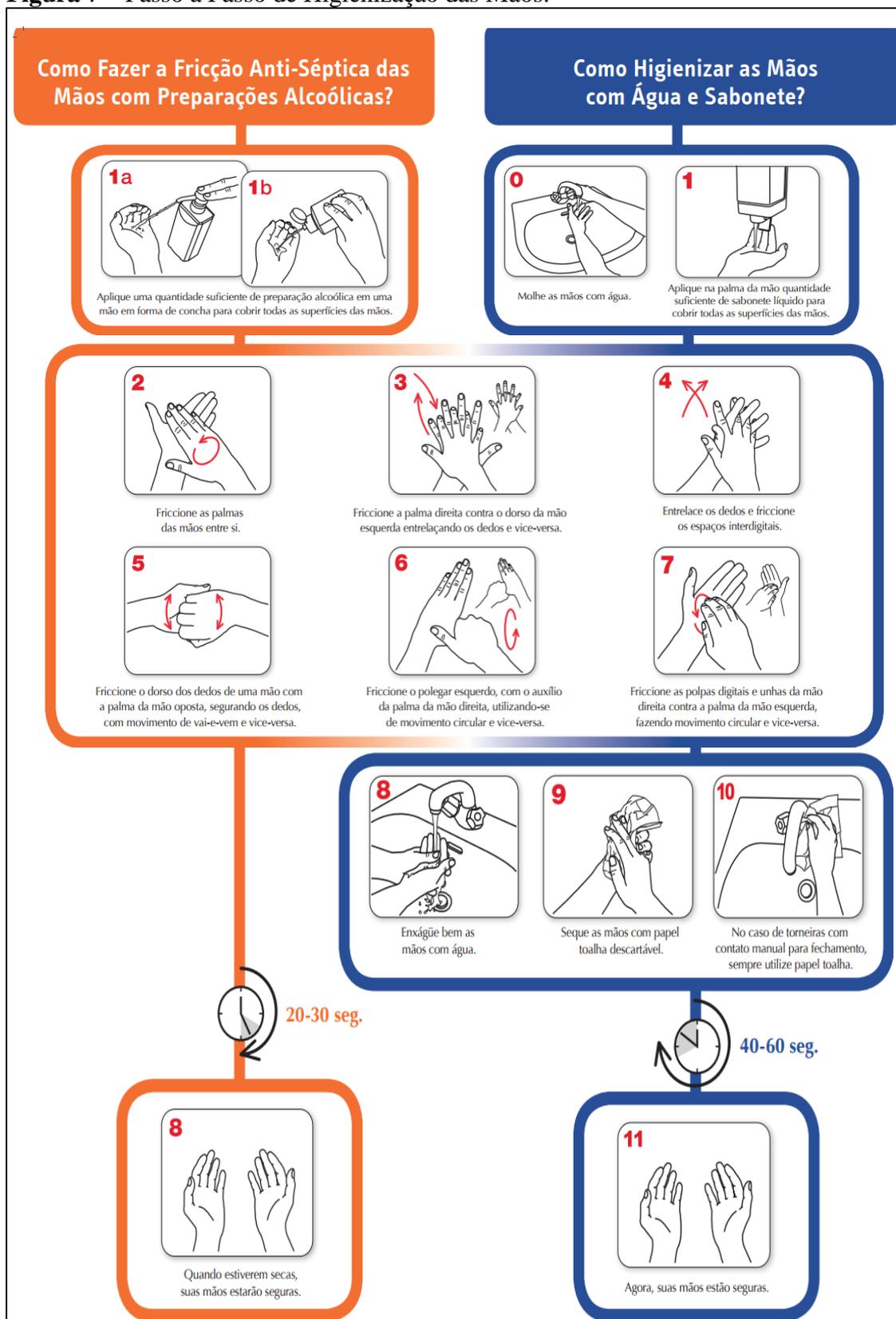
2.6 Procedimentos de Higienização e Antissepsia para a Coleta de Sangue

O local da punção deve ser limpo para evitar a contaminação microbológica do paciente ou da amostra. “O álcool a 70% é o que possui, dentre outras concentrações, a maior eficácia germicida *in vitro*. ” (SBPC, 2010, p. 23). Para este procedimento devem ser observadas as seguintes recomendações:

Trocar as luvas, com cuidado para que não rasguem; Usar uma compressa de gaze com solução de álcool isopropílico a 70%; Limpar o local com um movimento circular do centro para a fora; Deixar a área secar naturalmente por 30 segundos para prevenir a hemólise da amostra e evitar que o paciente sofra uma sensação de queimação quando a punção venosa for realizada; Se a punção venosa revelar-se difícil e a veia precisar ser novamente tocada para retirar sangue, o local deve ser limpo novamente; Não assoprar, não abanar e não colocar nada no local. (CLSI, 2003, p. 13).

Após o contato com cada paciente, as mãos devem ser higienizadas para evitar a contaminação cruzada. A higienização pode ser feita com água e sabão ou com fricção antiséptica usando álcool gel, seguindo os passos estabelecidos pela ANVISA (Figura 9). Vale ressaltar que a fricção com álcool reduz em 1/3 o tempo despendido pelos profissionais de saúde para a higiene das mãos, aumentando a aderência a esta ação básica de controle.

Figura 7 – Passo a Passo de Higienização das Mãos.



Fonte: ANVISA: higienização das mãos em serviços de saúde (2007).

2.7 Realização da Venopunção para Coleta de Sangue

Uma boa qualidade nos resultados da pesquisa depende, dentre outros, da representatividade da amostra biológica e da sua estabilidade.

As amostras, para serem representativas, devem ter sua composição e integridade mantidas durante as fases pré-analíticas de coleta, manuseio, transporte e eventual armazenagem. A estabilidade de uma amostra sanguínea é definida pela capacidade dos seus elementos se manterem nos valores iniciais, dentro de limites de variação aceitáveis, por um determinado período de tempo, quando armazenada em condições definidas (SBPC, 2010, p. 13).

A Venopunção “é a punção de uma veia para fins cirúrgicos ou terapêuticos, ou para coleta de amostras de sangue para análise”. (CLSI, 2003, p. 2). Sabe-se que vários processos pré-analíticos devem ser cumpridos na fase da punção venosa para obter bons resultados nas análises. Para SBPC (2010) cerca de 60% das falhas nos resultados dos exames são devidos a inúmeras variáveis na fase pré-analítica, sendo as mais evidentes:

Amostra insuficiente; amostra incorreta [tipo incorreto de aditivo]; amostra inadequada [hemolisada, lipêmica, icterícia, como ilustrado na Figura 10]; tubos coletados desrespeitando a proporção adequada entre sangue e anticoagulante; identificação incorreta; problemas no acondicionamento e transporte da amostra. SBPC (2010, p. 9).

Figura 8 – Quatro amostras de soros, da esquerda para a direita: a primeira apresenta-se normal; a segunda, hemolisada; a terceira apresenta-se com uma cor mais intensa quando comparada com a normal, indicando icterícia; a quarta indica lipemia.



Fonte: Bain (2016).

Martinelli (2004, p. 246) considera uma amostra icterícia quando a consequente deposição da taxa de bilirrubina no Soro ou no Plasma ultrapassa a taxa de normalidade

(hiperbilirrubinemia), tornando a cor amarelada. A Lipemia por sua vez, segundo SBPC (2014, p. 145), corresponde ao aumento lipídico no Plasma ou Soro.

Sempre que uma amostra for colhida, a CLSI orienta que o profissional deva cumprir algumas etapas para diminuir ou até mesmo zerar tais falhas pré-analíticas, as quais constam no Quadro 3:

Quadro 3 – Etapas que os profissionais de saúde devem cumprir para diminuir as falhas pré-analíticas.

- Verificar a solicitação do exame.
- Apresentar se ao participante da pesquisa, estabelecendo comunicação e ganhando sua confiança.
- Realizar a identificação do indivíduo. Solicitar um documento para confirmação dos dados.
- Verificar se as condições de preparo e o jejum do paciente estão adequados.
- Registrar todas as informações necessárias em formulário próprio.
- Sempre que o paciente for submetido a exames de imagem com uso de contrastes, deve-se, primeiramente, executar a coleta de sangue e, na sequência, o exame de imagem.
- Verificar se o local de coleta está limpo e com todos os insumos necessários para iniciar as coletas.
- Conferir e ordenar todo o material a ser usado no participante, de acordo com a solicitação de exames.
- Identificar os tubos na frente do paciente.
- Informar ao paciente como será o procedimento.

Fonte: CLSI (2003, p. 6).

Para a realização da coleta, as seguintes técnicas apresentadas pela SBPC (2010, p. 42) devem ser seguidas:

1. Abrir o lacre da agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo em frente ao Paciente;
2. Rosquear agulha no adaptador do sistema a vácuo;
3. Fazer a higienização e assepsia das mãos entre o atendimento dos participantes;
4. Calçar as luvas;
5. Posicionar o braço do participante, inclinándolo para baixo na altura do ombro;
6. Colocar o torniquete, pedir para que o paciente abra e feche a mão, em seguida afrouxar o instrumento;
7. Fazer a antissepsia do local;
8. Retirar a proteção que recobre a agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo;

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

10. Inserir o primeiro tubo a vácuo (se for mais de um);

11. Quando o sangue começar a fluir para dentro do tubo, desgarrrotear o braço do paciente e pedir para que abra a mão;

12. Realizar a troca dos tubos sucessivamente (quando tiver mais de um);

13. Homogeneizar imediatamente após a retirada de cada tubo, invertendo-o suavemente de 5 a 10 vezes;

14. Após a retirada do último tubo, remover a agulha e fazer a compressão no local da punção, com algodão ou gaze seco;

15. Exercer pressão no local, em geral, de 1 a 2 minutos, evitando-se, assim, a formação de hematomas e sangramentos.

16. Descartar a agulha imediatamente após sua remoção do braço do paciente, em recipiente para materiais perfurocortantes;

17. Fazer curativo oclusivo no local da punção;

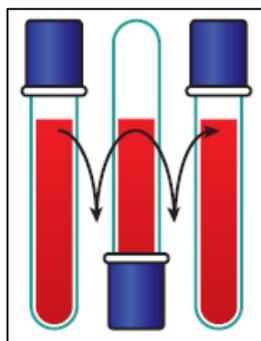
18. Orientar o paciente a não dobrar o braço, não carregar peso ou bolsa a tiracolo no mesmo lado da punção por, no mínimo, 1 hora, e não manter a manga dobrada, pois pode funcionar como torniquete;

19. Verificar se há alguma pendência, fornecendo orientações adicionais ao paciente, se for necessário.

20. Colocar as amostras em local adequado ou encaminhá-las imediatamente ao processamento. Deve-se respeitar sempre o procedimento operacional do laboratório; por exemplo, nos casos recomendados, manter em gelo os materiais necessários.

2.8 Homogeneização Para Tubos de Coleta de Sangue

Após a coleta, cada tubo deve ser homogeneizado, imediatamente, de acordo com as recomendações técnicas. Este processo, ilustrado na Figura 11, consiste em virar o tubo para baixo e retorná-lo à posição inicial, de forma suave, em quantidades de vezes especificadas pelo fabricante, para cada tubo, o que pode variar. No geral, o número de inversões é indicado conforme descritos no Quadro 4, porém, deve-se sempre consultar as especificações do fabricante.

Figura 9 – Movimento de inversão dos tubos durante a homogeneização.

Fonte: SBPC (2010, p. 41).

Algumas observações pertinentes da SBPC (2010) relativas à homogeneização dos tubos, não devem ser negligenciadas, sob o risco de inadequações das amostras, como:

Os tubos de citrato não devem ser vigorosamente homogeneizados, pois pode haver uma ativação plaquetária e interferência nos testes de coagulação; se estes tubos forem a vácuo e a coleta tenha sido apenas parcialmente, uma falsa trombocitopenia pode ser observada, este fenômeno pode ocorrer pela ativação plaquetária causada pelo “espaço morto” entre o sangue coletado e a rolha destes tubos; a falha na homogeneização adequada do sangue em tubo com anticoagulante precipita a formação de microcoágulos. (SBPC, 2010, p. 40).

Quadro 4 – Número de inversões dos tubos durante o processo de homogeneização após a coleta.

GRUPO DE ANTICOAGULANTES/ADITIVOS	COR DA TAMPA	NÚMERO DE INVERSÕES
Tubos com gel e ativador de coágulo	Amarela	5 a 8 vezes
Tubos com gel e heparina	Verde	8 a 10 vezes
Tubos siliconizados	Vermelha	Não é necessário homogeneizar
Partículas ativadoras de coágulo	Vermelha	5 a 8 vezes
EDTA K2 ou EDTA K3	Roxa	8 a 10 vezes
Citrato (coagulação)	Azul	5 a 8 vezes
Citrato (VHS)	Preta	5 a 8 vezes
Fluoreto de sódio/EDTA Na2 (glicose)	Cinza	8 a 10 vezes
Heparina	Verde	8 a 10 vezes
Ácido cítrico, citrato, dextrose (ACD)	Amarela	8 a 10 vezes
EDTA ou heparina	Azul	8 a 10 vezes
Com ativador de coágulo para obtenção de soro	Vermelha	5 a 8 vezes

Fonte: Adaptado de SBPC: Recomendações Para Coleta de Sangue Venoso (2010, p. 41).

2.9 Dificuldade para a coleta da amostra de sangue

Algumas dificuldades para a obtenção da amostra podem ser apresentadas durante a coleta. Neste caso, existem algumas técnicas adicionais (apresentadas no Quadro 4) para auxiliar na coleta.

Quadro 5 – Técnicas adicionais para auxiliar na coleta.

- Se a agulha penetrou profundamente na veia, puxe-a um pouco para trás; se não penetrou o suficiente, avance-a até atingir a veia.
- Se houver suspeita de entupimento da veia puncionada, durante a coleta, recomenda-se virar lenta e cuidadosamente a agulha para que o bisel fique desobstruído, permitindo a recomposição da luz da veia e a liberação do fluxo sanguíneo. Realocação lateral da agulha nunca deve ser tentada para se alcançar a veia basílica, devido à sua proximidade com a artéria braquial.
- Se por qualquer motivo, o tubo utilizado inicialmente falhar, tentar coletar o material com outro.
- Não são recomendados os movimentos de busca aleatória da veia; este tipo de movimento pode ser doloroso e pode produzir perfurações arteriais, resultando em: hematoma, compressão do nervo ou lesão direta do nervo.
- Não é recomendável que o mesmo profissional tente mais de duas vezes uma venopunção. Se possível, outra pessoa deve ser acionada para completar a coleta no indivíduo.

Fonte: SBPC (2010, p. 29)

2.10 Considerações Importantes Sobre Hemólise

A hemólise interfere na análise de diversos analitos e pode ocorrer em consequência de eventos intravasculares (hemólise *in vivo*) ou subsequente a ou durante a coleta de sangue (hemólise *in vitro*) pela presença de diversos eventos, como, “presença de álcool residual no local de punção; hemácias com fragilidade celular aumentada; excesso de manipulação e pressão sobre a área a ser puncionada antes da coleta.” (SBPC, 2014, p. 110).

A hemólise é definida como:

“Liberação dos constituintes intracelulares para o plasma ou soro”, quando ocorre a ruptura das células do sangue [...]. Ela é geralmente reconhecida pela aparência avermelhada do soro ou plasma, após a centrifugação ou sedimentação, causada pela hemoglobina liberada durante a ruptura dos eritrócitos. (SBPC, 2010, p. 30).

Figura 10 – Amostra com diferentes graus de hemólise.



Fonte: SBPC (2010, p. 30).

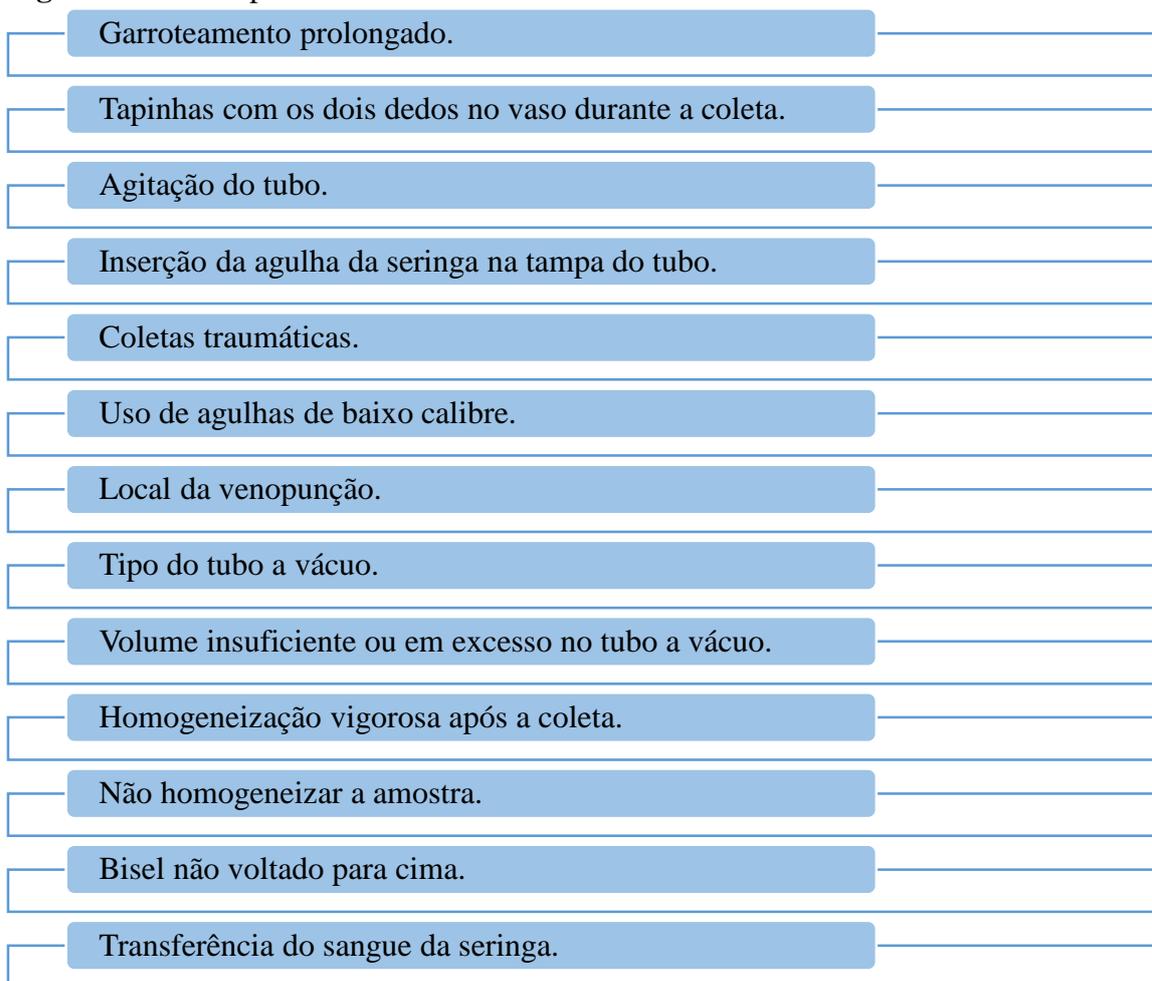
A SBPC (2010) disponibiliza as boas práticas de pré-coleta e pós-coleta para prevenção de hemólise.

Boas práticas de pré-coleta para prevenção de hemólise:

Deixar o álcool secar antes de iniciar a punção; evitar usar agulhas de menor calibre. Usar esse tipo de material somente quando a veia do paciente for fina ou em casos especiais; evitar colher o sangue de área com hematoma; em coletas a vácuo, puncionar a veia do paciente com o bisel voltado para cima. Perfure a veia com a agulha a um ângulo oblíquo de inserção de 30 graus ou menos. Assim, evita-se que o sangue se choque com força na parede do tubo, hemolisando a amostra, e previne-se também o refluxo do sangue do tubo para a veia do paciente. Tubos com volume de sangue insuficiente ou em excesso alteram a proporção correta de sangue/aditivo, levando à hemólise e a resultados incorretos; Em coletas com seringa e agulha, verificar se a agulha está bem adaptada à seringa, para evitar a formação de espuma; Não puxar o êmbolo da seringa com muita força; Ainda em coletas com seringa, descartar a agulha e passar o sangue deslizando-o cuidadosamente pela parede do tubo, cuidando para que não haja contaminação da extremidade da seringa com o anticoagulante ou com o ativador de coágulo contido no tubo; Não executar o procedimento de espetar a agulha na tampa de borracha do tubo para a transferência do sangue da seringa para o tubo, pois poderá criar uma pressão positiva, o que provoca, além da hemólise, o deslocamento da rolha do tubo, levando à quebra da *probe* de equipamentos. (SBPC, 2010, p. 31).

Boas práticas de pós-coleta para prevenção de hemólise:

Homogeneizar a amostra suavemente por inversão de 5 a 10 vezes, de acordo com as instruções do fabricante (ver Quadro 4); não chacoalhar o tubo; não deixar o sangue em contato direto com gelo, quando o analito a ser dosado necessitar desta conservação; usar, de preferência, um tubo primário; evitar a transferência de um tubo para outro; não deixar o sangue armazenado por muito tempo refrigerado antes de fazer os exames. Verificar as recomendações do fabricante do *kit* do teste; não centrifugar a amostra de sangue em tubo para obtenção de soro antes do término da retração do coágulo, pois a formação do coágulo ainda não está completa, o que pode levar à ruptura celular; quando utilizar um tubo primário (com gel separador), a centrifugação e a separação do soro devem ser realizadas dentro de, no mínimo, 30 minutos e, no máximo, 2 horas após a coleta; não usar o freio da centrífuga com o intuito de interromper a centrifugação dos tubos. Essa brusca interrupção pode provocar hemólise. (SBPC, 2010, p. 31).

Figura 11 – Principais Causas de Hemólises Relacionadas à Coleta.

Fonte: SBPC (2010).

Baseado nas recomendações supracitadas foi elaborado um POP para coleta de sangue venoso, o qual está disponível ao final deste Manual para consulta (APÊNDICE A).

3. PROCESSAMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO

3.1 Componentes Sanguíneos

Segundo César (2005, p. 324), o sangue é um tipo especial de tecido conjuntivo, formado por células progenitoras hematopoéticas (CPH) da medula óssea e constituído pelos glóbulos sanguíneos e plasma.

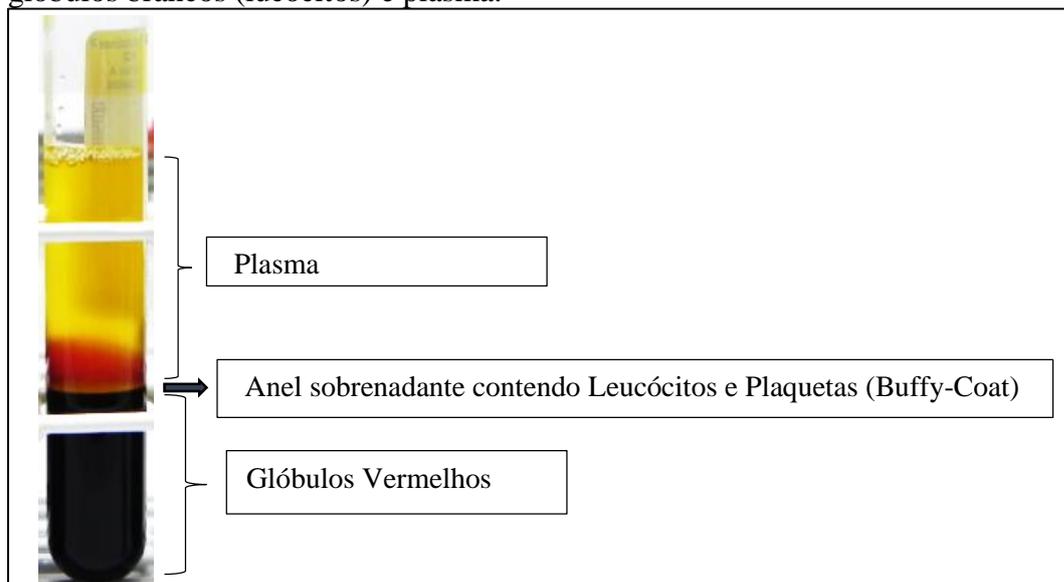
Os glóbulos sanguíneos são constituídos pelas hemácias, plaquetas e leucócitos (glóbulos brancos) e tem a função de transportar oxigênio e dióxido de carbono através das hemácias (glóbulos vermelhos), proteger o organismo contra infecções por meio dos leucócitos, e participam da coagulação através das plaquetas. O plasma é o componente líquido do sangue contendo diversas substâncias, dentre elas as proteínas albuminas, as alfas, beta e gamaglobulinas, lipoproteínas, protrombina e fibrinogênio, sendo as duas últimas, participantes da coagulação do sangue. (CÉSAR, 2005, p. 356).

A partir do fracionamento do sangue por centrifugação obtêm-se, claramente, os componentes sanguíneos – glóbulos sanguíneos e plasma. A WHO-IARC (2007, p. 24) descreve os processos para obtenção de soro, leucócito e plasma que, resumidamente, acontece da seguinte forma:

- O soro é obtido a partir de amostras coletadas em tubos contendo ativador de coágulo. Durante a centrifugação, as células vermelhas (hemácias) coagulam. Neste processo há o consumo de fibrinogênio, plaquetas e todos os fatores envolvidos na coagulação. A parte líquida do sangue (plasma), agora livre de fibrinogênio, contendo os mediadores liberados pelas plaquetas, migra para a porção superior do tubo constituindo o soro, incolor. Resumidamente, o soro é a parte líquida do sangue, obtida após ter concluído a coagulação, livre de fibrinogênio.
- O sangue obtido no tubo a vácuo com anticoagulante, sem ter passado pelo processo de centrifugação, é chamado de sangue total. Para a obtenção do plasma e glóbulos brancos, faz-se a centrifugação do sangue total com o anticoagulante. As células vermelhas (hemácias) vão para a porção inferior do tubo, os glóbulos brancos tendem a formar um anel sobrenadante na porção mediana, e os componentes não celulares contendo água, proteínas (fibrinogênio, albuminas e globulinas) e solutos não protéicos, migram para a parte superior do tubo, constituindo o plasma que é um líquido de cor amarelada. Portanto, o plasma é o componente não celular do sangue total não coagulado. Desta vez, não há consumo de fibrinogênio e nem liberação de substâncias plaquetárias, tendo o plasma, fibrinogênio e fatores de coagulação em sua composição.

Observa-se, então, que o soro é livre de fibrinogênio e dos fatores de coagulação, pois estes foram utilizados para a formação de fibrina no momento da coagulação dos glóbulos vermelhos, ao contrário do plasma, que o possui. Cada uma destas frações do sangue, soro, plasma ou leucócitos (buffy-coat), se constitui na matriz ideal para a realização de exames específicos.

Figura 12 – Tubo sem anticoagulante, centrifugado, mostrando os glóbulos vermelhos, os glóbulos brancos (lucóцитos) e plasma.



Fonte: extraída de www.ossoecartilagem.com.br (acesso em 23 de novembro de 2017).

Na etapa de processamento das amostras, devem ser avaliadas as variações pré-analíticas *in vitro* que incluem, dentre outras:

O atraso e temperatura de pré-centrifugação, os detalhes de centrifugação para fluidos biológicos, tempos de isquemia quente e fria para tecidos sólidos, tipo de amostragem, tipo e tempo de fixação, tempo de atraso antes de colocar em armazenamento em longo prazo, tipo de armazenamento em longo prazo e protocolo exato de criopreservação da amostra e de restauração para condições ambientais. (ISBER, 2012, p. 31).

A padronização de métodos durante a manipulação das amostras permite aos pesquisadores, segundo Riegman (2008, p. 218), obter um maior controle das variáveis pré-analíticas, da estabilidade das amostras e garantir que os bioespécimens estejam adequados para o objetivo da pesquisa. A estabilidade de uma amostra depende de vários fatores, sendo que para SBPC (2014, p. 38) o tempo e a temperatura de armazenamento são as duas variáveis que causam maior impacto. Em geral, os tempos referidos de armazenagem das amostras primárias consideram os seguintes limites para a temperatura: “ambiente, de 18 a 25°C; refrigeradas, de 4 a 8°C; e congeladas, abaixo de 20°C negativos.” (SBPC, 2014, p. 217). Em razão da estabilidade das amostras variarem de uma para outra, recomenda-se, sempre consultar a literatura especializada para cada caso.

A CLSI (2003, p. 4) esclarece a fase de processamento da amostra compreendem a pré-centrifugação, centrifugação e pós-centrifugação e que, ao longo dessas três fases, estão incluídos o processo de coleta, homogeneização dos tubos, tempo de coagulação dos soros,

preparo para a centrifugação de amostra, tempo de centrifugação, condições dos tubos, temperatura e rotação da centrífuga, observações de temperatura, de tempo decorrido, etapa de separação dos componentes sanguíneos e aliquotagem de amostra para realização do exame ou armazenagem. Quando, eventualmente, os exames não puderem ser realizados logo após a coleta, “as amostras devem ser processadas até o ponto em que possam aguardar as dosagens em condições para que não haja interferência significativa em seus constituintes” (SBPC, 2010, p. 15).

Na falta de alguns cuidados durante o processamento de amostras, parâmetros de análise podem sofrer interferência devido à perda de substâncias importantes para o exame. Para que isto não ocorra, algumas recomendações da CLSI (2004) e SBPC (2014) estão descritas a seguir:

- Quando os analitos a serem testados são termolábeis (substância que perde suas propriedades por aquecimento), sejam obtidos do soro ou do plasma, estes devem ser separados dos componentes celulares do sangue com o uso de uma centrífuga clínica refrigerada;

- Para os analitos termolábeis (que perdem suas propriedades em temperaturas baixas), o laboratório deve padronizar a coleta e processamento para estes materiais biológico;

- Vários analitos sofrem alteração quando a amostra não é centrifugada dentro de duas horas a partir do horário da coleta, por isso o ideal é que o tempo entre a coleta e centrifugação do sangue não deva exceder duas horas;

- Para obtenção de soro e plasma, a centrifugação, separação dos componentes sanguíneos e aliquotagem das amostras deverão acontecer dentro de, no máximo, 2 horas após a coleta;

- A separação de soro deve respeitar o intervalo de duas horas, porém com cuidado para não haver separação prematura (antes que ocorra a total retração do coágulo). Este evento, além de favorecer a ruptura celular (causando hemólise) pode não interromper o processo de formação de fibrina, ocasionando o entupimento do dispositivo para as amostras no equipamento de teste;

- Para testes que tem objetivo de amplificar o RNA, como p. ex., carga viral de HIV e HCV, se o sangue total for coletado em tubo sem gel separador, o plasma deve ser removido para um tubo secundário, em até 4 horas após a coleta. O plasma de amostras coletadas em tubos contendo gel separador, bem como àqueles removidos de amostras coletadas em tubos sem gel separador, são estáveis por até 5 dias, entre 2° a 8°C;

- A carga viral de HIV, HBV e HCV sofrem alterações dependendo do tipo de anticoagulante utilizado, manipulação e armazenamento. Portanto, cada laboratório deve validar protocolos de coleta e processamento para esses tipos de testes;

- Se não for possível centrifugar as amostras em tubos com anticoagulante para obtenção de plasma dentro de duas horas, o espécime deve ficar refrigerado à temperatura de 4°C para reduzir a hemólise, por um período que vai depender do tipo de análise que se deseja realizar, podendo ser de 30 minutos a 72 horas;

- Uma atenção especial deve ser dada aos tubos contendo o anticoagulante citrato de sódio contendo amostras para teste de coagulação, pois alguns analitos, como certas enzimas e fatores de coagulação, são termolábeis, neste caso, devem-se respeitar os padrões do laboratório quanto à temperatura para amostra e tempo decorrido a partir da coleta para tais testes;

- Ainda sobre os tubos para testes de coagulação, alguns procedimentos requerem a dupla centrifugação, ou seja, o PPP da primeira centrifugação é transferido para outro tubo plástico e centrifugado pela segunda vez, sendo que a porção inferior não deve ser utilizada porque contém plaquetas remanescentes da primeira centrifugação;

- As amostras colhidas em tubo com anticoagulante para exames em sangue total, devem ser mantidas refrigeradas até o procedimento, em temperatura de 4 a 8°C;

- O sangue total para análise de DNA pode ser armazenado à temperatura ambiente por até 24 horas ou entre 2 e 8°C por até 72 horas antes da extração de DNA;

- O sangue total para análise de RNA deve ser refrigerado entre 2 e 8°C antes da extração de RNA, não podendo ultrapassar 4 horas;

- O ideal é que o sangue a ser utilizado para análise de RNA e DNA sejam coletados em tubos contendo aditivos estabilizadores de RNA e DNA, respectivamente. O armazenamento de sangue total não estabilizado não é recomendado para análise de transcrição gênica, devido à indução gênica de artefatos e à degradação do RNA;

- Os tubos com amostra para obtenção de sangue total ou plasma, para realização de testes moleculares não devem estar em contato direto com o gelo, pois o contato da amostra direto com o gelo pode ocasionar quebra das hemácias e, portanto, hemólise das células. O grupo heme (principal componente da hemoglobina) inibe fortemente a reação de polimerase em cadeia (PCR), principal método molecular atualmente utilizado. Assim, deve-se evitar a hemólise do material nos testes moleculares;

- A agitação excessiva dos tubos para obtenção de Sangue Total ou Plasma durante o manuseio, pode contribuir para a hemólise do material;

- Para as amostras utilizadas em diagnóstico molecular, em sua maioria, o plasma deve ser retirado do tubo primário rapidamente após a centrifugação e encaminhado ao freezer de armazenamento;

- Tubos com gel separador não podem ser resfriados antes nem durante a centrifugação, pois as propriedades de fluxo do gel relacionam-se com a temperatura e, neste caso, a formação da barreira de gel pode ser comprometida caso o tubo seja resfriado. Sendo assim os tubos com gel não podem ser centrifugados em baixas temperaturas;

- Os tubos para a obtenção de plasma para a dosagem de bilirrubina, beta-caroteno, vitamina B12 e ácido fólico, devem estar protegidos da luz, evitando a degradação do material;

- Os tubos contendo amostras devem ser centrifugados tampados. O fechamento reduz a evaporação, que ocorre rapidamente em uma centrífuga aquecida com a corrente de ar formada na centrifugação, especialmente os tubos de amostras contendo compostos voláteis, como o etanol, além de impedir a formação de aerossóis dos agentes infecciosos e manter as condições anaeróbicas, que são importantes na medição de dióxido de carbono e cálcio ionizado.

Alguns exames são realizados a partir do Soro, devido os analitos necessários para análise estar presente, em maior concentração, nesta matriz sanguínea. Conforme já discutido, para obtenção do soro, as amostras de sangue são coletadas em tubos contendo ativador de coágulo com características diferenciadas, sendo necessário após a coleta, a espera por um determinado tempo, antes da centrifugação, para que ocorra a total retração do coágulo, visando evitar a formação de fibrina. Os tempos recomendados baseiam-se nos processos normais de coagulação e estão demonstrados no Quadro 05, porém é sempre importante verificar as recomendações do fabricante.

Quadro 06 – Tempo mínimo de retração de coágulo recomendado antes da centrifugação dos diferentes tubos para obtenção de soro.

TIPOS DE TUBOS PARA OBTENÇÃO DE SORO	COR DA TAMPA	TEMPO DE COAGULAÇÃO (minutos)
Sem ativador de coágulo	Vermelha	60
Com ativador de coágulo	Vermelha	30
Com ativador de coágulo e gel separador	Amarela	30
Com acelerador de coágulo e gel separador	Laranja	3 a 5

Fonte: SBPC (2010, p. 32).

Algumas variações quanto ao tempo de retração de coágulo dizem respeito aos pacientes portadores de coagulopatias ou submetidos à terapia com anticoagulantes que, geralmente, requerem um tempo maior para esta etapa da fase pré-analítica, a SBPC (2010) cita alguns exemplos:

Amostras de pacientes com distúrbio na produção de proteínas podem causar má formação de barreira de gel e as desordens podem causar mudanças na densidade do soro, gerando a permanência do soro abaixo do gel, após a centrifugação e, algumas vezes, a ausência de movimento do gel. Nas amostras de soro colhido de pacientes portadores de gamopatia monoclonal, como o mieloma múltiplo, a barreira de gel pode se misturar ao soro e às células. Nessa condição, a imunoglobulina inibe os três estágios da formação de fibrina: ação proteolítica da trombina sobre o fibrinogênio; agregação dos monômeros de fibrina e; estabilização da fibrina pela ligação cruzada das cadeias gama e alfa. Como o gel não se move, haverá, em tese, certa quantidade de soro que deve ser aliqüotada imediatamente em um tubo secundário para a análise; soros de pacientes com desordens de coagulação podem requerer mais de 30 minutos para total coagulação da amostra, assim como os de pacientes em tratamento com altas doses de heparina podem não coagular a amostra, certas doenças do fígado podem também requerer maior tempo para coagulação da amostra. Esses fatos também requerem maior atenção, pois podem acarretar má formação da barreira de gel, caso não seja esperado o tempo de total coagulação da amostra com centrifugação antecipada. (SBPC, 2010, p. 33).

A maioria das análises laboratoriais em amostras de sangue requer uma centrifugação prévia para separar o soro ou o plasma das células sanguíneas.

Centrifugação é o processo da força centrífuga para separar as porções mais leves de uma solução, mistura ou suspensão, das porções mais pesadas. Uma centrífuga é o aparelho no qual é efetuada a centrifugação [...]. Os tipos de centrífugas utilizadas em laboratório clínico incluem: rotor de ângulo móvel ou *swing bucket*; de ângulo fixo ou *anglehead*; ultracentrífuga e; axial. (BURTIS, 2016, p. 37).

Para o correto funcionamento da centrífuga (Figuras 13, 14 e 15), algumas variáveis, determinantes, devem ser conhecidas:

Força centrífuga relativa (RCF), também conhecida como força “g”, gerada quando uma determinada massa é submetida a um movimento circular; tamanho do tubo utilizado na coleta de sangue e; temperatura. O tamanho (comprimento) dos tubos define o volume de plasma ou soro requerido para as dosagens. A RCF determina a resistência dos tubos e dos componentes do sangue à gravidade e aos limites técnicos da centrífuga e do seu rotor. As variações na temperatura são limitadas pela estabilidade dos analitos. Deste modo, o tempo de centrifugação varia para que se alcance a qualidade desejada das amostras em suas análises (SBPC, 2014, p. 45).

Figura 13 – Centrífuga de Bancada de Laboratório. Marca: celm. Modelo: LS3 PLUS. Fabricante: Sarstedt.



Figura 14 – Rotor e caçamba de uma centrífuga de bancada. Marca: SPINLAB. Modelo TH – 2050 R. Fabricante BioTek.

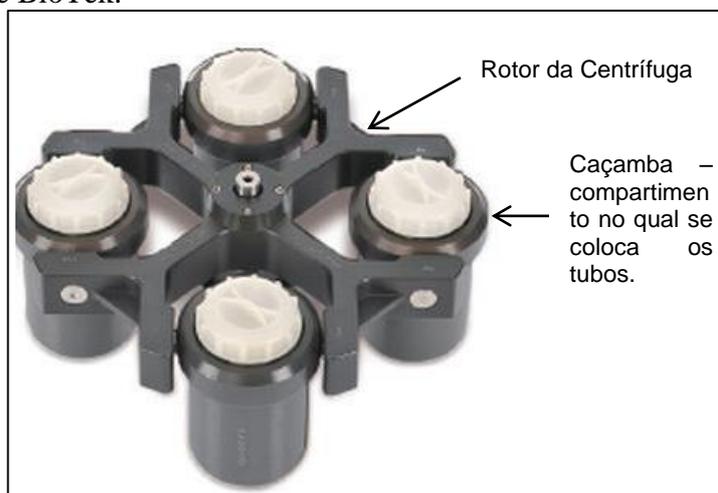


Figura 15 – Rotor de centrífuga de ângulo fixo, modelo DT-4000. Marca: Daiki. (à esquerda); e ângulo móvel, modelo SMV 6. Fabricante: Sarstedt (à direita).



3.2 Tempo e rotação para centrifugação das amostras

A obtenção de plasma e soro de qualidade segue alguns critérios padronizados durante a centrifugação, como a Força Centrífuga Relativa do rotor e tempo necessário para sedimentar as partículas. O Quadro 06 demonstra a RCF e o tempo de centrifugação recomendados para diferentes tubos. Porém, é sempre importante buscar as orientações do fabricante dos tubos, pois a relação velocidade/tempo pode variar de um fornecedor para outro.

Quadro 07 – Tempo de centrifugação e força centrífuga relativa estimada para a centrifugação de diversos tipos de tubos.

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

Fonte: Adaptado de SBPC: Recomendações Para Coleta de Sangue Venoso (2010, p. 35).

Além do intervalo e força centrífuga relativa, outros cuidados descritos no Quadro 6 são apresentados pela SBPC (2014) para a centrifugação dos tubos de coleta, pois irão influenciar diretamente nas boas práticas de processamento das amostras.

Quadro 8 – Alguns cuidados a serem seguidos durante a centrifugação dos tubos de coleta.

- Para centrifugação de tubos de coleta a vácuo, é mais recomendado o uso de centrífugas de ângulo móvel (tipo <i>swing-bucket</i>), não refrigeradas, do que centrífugas de ângulo fixo, pois as barreiras obterão maior estabilidade.
- O material do tubo deve suportar a RCF à qual ficarão sujeitos durante a centrifugação, por isso deve ser seguido a recomendação do fabricante.
- Utilizar sempre caçambas ou cubetas apropriadas nas centrífugas, de tamanho específico para os tubos usados. Cubetas muito grandes ou muito pequenas podem causar a quebra ou o deslocamento dos tubos, levando à má separação da amostra.
- Certificar-se de que os tubos estejam corretamente encaixados na caçamba da centrífuga. Um encaixe incompleto pode fazer com que a tampa de proteção do tubo se desprenda, ou que a parte superior do tubo fique fora da caçamba, podendo chocar-se com a cabeça da centrífuga e quebrar-se.
- Balancear os tubos para minimizar o risco de quebra. Os tubos devem ser agrupados de acordo com o tipo, por exemplo: tubos com o mesmo volume de aspiração, tubos de tamanhos iguais, tubos de vidro com tubos de vidro, tubos com o mesmo tipo de tampa ou rolha de proteção, tubos com gel com outros do mesmo tipo, e tubos de plástico com tubos de plástico.
- Após utilizar à centrífuga, efetuar a sua limpeza com hipoclorito a 1% para minimizar a possível disseminação de agentes infecciosos.
- Os tubos não devem passar por um segundo processo de centrifugação após a formação da barreira.
- Recomenda-se sempre aguardar até que a centrífuga pare completamente antes de tentar retirar os tubos. Não usar o freio da centrífuga com o intuito de interromper a centrifugação dos tubos; essa brusca interrupção, além de hemólise, pode deslocar o gel separador.
- É importante sempre avaliar o aspecto final da amostra após a centrifugação para verificar a presença de hemólise, fibrina, lipemia e outros.
- Para que funcione sempre em boas condições, o laboratório deve conter um plano periódico de manutenção preventiva da centrífuga, no qual contemple a calibração e verificação das condições metrológicas (conjunto de medições indicadas para o aparelho, p. ex., temperatura, velocidade de rotação, temporizador).

Fonte: SBPC (2014).

Baseando-se na RDC ANVISA nº 33/2006, identificam-se outros elementos, não menos importante, a serem aplicados na etapa de processamento de amostras, quais sejam:

- O setor deve conter um formulário padronizado de execução de processamento de amostra, no qual deverá registrar: identificação da amostra; data e hora do início do processamento; método de processamento; data e hora do término do processamento; identificação do executor do processamento; volume do material processado; e registro das condições do equipamento de armazenagem, documentando a temperatura no momento do armazenamento.
- O laboratório deve assegurar a limpeza e assepsia dos equipamentos e da sala de processamento, a cada processamento.

- A sala de processamento deve possuir equipamentos e instrumentos de acordo com a complexidade do serviço e necessários ao atendimento de sua demanda. Para o correto uso de tais equipamentos, devem estar presentes no Setor, instruções escritas referentes a equipamento ou instrumento, as quais podem ser substituídas ou complementadas por manuais do fabricante em língua portuguesa, realizar e manter registros das manutenções preventivas e corretivas, verificar ou calibrar os instrumentos a intervalos regulares, em conformidade com o uso, mantendo os registros dos mesmos e verificar a calibração de equipamentos de medição mantendo registro das mesmas.
- Quando for necessário fazer a criopreservação, esta deve ser feita em processo de congelamento validado, devendo ser registrados os seguintes dados: a curva de redução de temperatura, quando utilizada a técnica de congelamento lento; a origem, o lote e a concentração dos meios e reagentes.

Criopreservação de uma amostra consiste na inativação de seus fenômenos biológicos (movimentos moleculares, reações químicas e atividades enzimáticas) em temperaturas inferiores a - 150 °C, de modo que esse quadro seja revertido com o aumento da temperatura. Para criopreservação, dois tipos de congelamento são usados: lento e rápido. O primeiro é um método no qual a amostra é gradualmente resfriada na fase de vapor por cerca de 40 minutos. Já no congelamento rápido, normalmente coloca-se a célula em suspensão em vapor de nitrogênio líquido para armazená-lo em temperatura de 196°C negativos. (CIPRIANO E FREITAS, 2013, p. 113).

Estas informações são críticas “na hora de analisar os resultados dos exames e para medidas de controle de qualidade”. (Riegman, 2008, p. 217). Por exemplo, “ajudará a explicar a presença de hemólise ou de fibrina” (ISBER, 2012, p. 65), ocorrências comuns quando não há uma manipulação adequada da amostra e quando não há tempo suficiente para que a coagulação ocorra, respectivamente.

Ao final do Manual estão presentes os seguintes Procedimentos Operacional Padrão: POP para processamento e armazenamento de amostra de sangue (APÊNDICE B); POP com instruções gerais para extração e armazenamento de Ácidos Nucléicos: DNA e RNA (APÊNDICE C); e POP para coleta, processamento e armazenamento de amostra de tecido obtida a partir de peça cirúrgica e de biópsia para utilização em pesquisa (APÊNDICE D). Tais POP's foram elaborados observando as recomendações apresentadas neste Manual.

4. ARMAZENAMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO

A temperatura na qual as amostras devem ser armazenadas é um fator crítico para a sua estabilidade, não podendo, portanto, ser desconsiderada.

A escolha da temperatura de armazenamento depende da elasticidade da amostra ao resfriamento, congelamento e desidratação induzida pelo frio, duração da exposição e tolerância aos tratamentos crioprotetores, tipo de amostra e uso nas análises pretendidas. A regra geral é que um ambiente de armazenamento quente, mesmo por um curto período de tempo, pode levar ao estresse fisiológico e à degradação macromolecular. Por este motivo, é necessário manter a temperatura adequada a partir do ponto de coleta até o processamento e armazenamento (ISBER, 2012, p. 65).

Ao definir a temperatura de armazenamento do material biológico, “deve-se considerar o tipo, a duração prevista de armazenamento, as biomoléculas de interesse e se os objetivos incluem a preservação de células viáveis”. (WHO-IARC, 2007, p. 8).

Quadro 9 – Padrões de preservação mais comumente aceitos para tecidos humanos e fluidos corporais.

Temperatura em °C	Método de Preservação	Recomendado para
0 a 4	Refrigerador	Processamento de material fresco
-27 a -40	Freezer	Limite de mobilidade de proteína / estabilidade do DNA
-40 a -80	Freezer	Estabilidade do RNA
-80 a -130	Freezer / Nitrogênio líquido	Recomendado para o armazenamento de sangue e urina
-130 a -150	Nitrogênio líquido	Recomendado para o armazenamento de tecidos
-150 a -196	Nitrogênio líquido	Recomendado para o armazenamento de células vivas

Fonte: Adaptado de WHO-IARC (2007, p. 9).

Temperaturas entre 2 a 8°C “devem ser consideradas como condição padrão para o transporte / armazenamento de amostras quando não congeladas”. (ISBER, 2012, p. 65). Entre as exceções, estão as amostras de sangue coletadas para produzir soro, que precisarão ser mantidas à temperatura ambiente por um mínimo de 30 minutos para permitir a coagulação.

Dependendo das características e finalidade da amostra a serem coletadas, formas diferenciadas de armazenagem são recomendadas, conforme demonstrado no Quadro 11.

Quadro 10 – Recomendações para armazenagem de sangue total, plasma, soro e células brancas.

- Se o sangue total obtido for para análise de DNA, este pode ser armazenado à temperatura ambiente por até 24 horas ou entre 2 e 8°C por até 72 horas antes da extração de DNA. Se o sangue total for utilizado para análise de RNA, este deve ser armazenado entre 2 e 8°C e a extração deve se iniciar dentro de 4 horas a partir da coleta. Caso não seja possível a extração de DNA dentro do intervalo de tempo citado, o plasma / buffy coat deve ser separado da amostra e congeladas em temperatura entre -20°C a -40°C ou em temperatura inferior.
- Para a maioria das amostras de plasma utilizadas em diagnóstico molecular, o plasma deve ser retirado do tubo primário rapidamente após a centrifugação e mantido em freezer a -20°C a -40°C °C.
- Para testes que requer a amplificação do RNA, o plasma separado, após a centrifugação, pode ser armazenado por até 5 dias, entre 2° a 8°C, ou por até 30 dias, se congeladas em temperatura entre -40 a -80.
- As células brancas removidas a partir do sangue total, podem ser criopreservadas em -20°C até que sejam necessárias para a extração de DNA. Por períodos longos de armazenamento, o DNA isolado pode ser armazenado em -70°C ou temperatura inferior.
- Os <i>Freezers</i> do tipo <i>frost-free</i> não devem ser utilizados para armazenamento de amostras biológicas, pois a temperatura sofre alterações diversas vezes por dia nesta variedade de <i>freezer</i> , podendo causar degradação do material armazenado.

Fonte: SBPC (2010)

“Muitos estudos mostraram que ciclos repetidos de congelamento e descongelamento levam a mudanças significativas no constituinte do sangue” (CHARDE, 2014, p. 51). Neste contexto, alguns cuidados especiais (Quadro 10) devem ser mantidos para garantir a estabilidade dos espécimens dentro dos padrões aceitáveis, quando na etapa de descongelamento.

Quadro 11 – Alguns cuidados especiais que devem ser mantidos para garantir a estabilidade dos espécimens dentro dos padrões aceitáveis, quando na etapa de descongelamento.

- Tecidos devem ser descongelados à temperatura ambiente por um curto período de tempo ou a temperatura hipotérmica (4 a 8 ° C) durante a noite, se o espécime estiver em palhetas de resina, este pode ser descongelado diretamente à temperatura ambiente ou em banho-maria a 37°C, sempre evitando que a umidade superficial dos banhos Maria entre nos recipientes de amostra.
- Para amostras vitrificadas, pode ser necessário aplicar um processo de reaquecimento de duas fases rápidas para garantir que as amostras não formem cristais de gelo à medida que passam pela T _g (temperatura de transição vítrea).
- As amostras criopreservadas em resfriamento lento devem ser descongeladas rapidamente. Um dos métodos aconselhável é agitar o frasco/ ampola / palha em banho Maria a 37°C por um curto período de tempo apenas o suficiente para que descongele o gelo cristalino visível, de modo que a temperatura da amostra continue hipotérmica (2 a 8°C), as células devem ser rapidamente diluídas em meios apropriados para minimizar a toxicidade dos meios de criopreservação.
- A exposição do DNA extraído a ciclos repetitivos de congelamento e descongelamento, poderá levar à ruptura no DNA. Sempre que for utilizar uma amostra de DNA extraído, descongelada, é importante misturar totalmente a amostra para garantir uma homogeneidade do espécime.
- Congelar e descongelar amostras sanguíneas pode fazer com que certos constituintes metabólicos ou celulares sofram alterações, como, adsorção no tubo plástico, desnaturação da proteína, bem como atividades metabólicas celulares que continuam a ocorrer. Assim, amostras de plasma ou soro que são congeladas e descongeladas têm rupturas de algumas estruturas moleculares, sobretudo, as moléculas de grandes proteínas. Congelamentos lentos também causam degradação de alguns componentes.
- Para quaisquer amostras, especialmente as líquidas de grande volume (como, soros, plasma e urina), é importante selecionar tamanhos de alíquotas que sejam apropriados para os usos previstos e armazená-las, a fim de minimizar o número de vezes que uma amostra é descongelada e congelada ou criopreservada antes do uso.
- É importante saber, antecipadamente, os requisitos de coleta, processamento e armazenamento de espécimes pelos fabricantes de kits de ensaios específicos. Assim, cada laboratório deve validar, para cada teste, os efeitos analíticos resultantes dos ciclos de congelamento/descongelamento para cada material biológico utilizado.

Fonte: ISBER (2012)

Nos padrões técnicos preconizados por algumas normativas nacionais estão presentes os requisitos para armazenamento de material biológico para fins assistenciais. Alguns, constantes no Quadro 11, podem ser aplicados para Biorrepositórios.

Quadro 12 – Requisitos para armazenamento de material biológico.

- As amostras devem ser depositadas em um local fixo e pré-determinado que permita a sua localização com facilidade, rapidez e segurança;
- Deve ser mantido registro das condições dos refrigeradores, congeladores ou reservatórios de armazenamento, documentando a temperatura ou o nível de nitrogênio, para amostras criopreservadas;
- A verificação e o registro da temperatura devem ser realizados, ao menos, a cada oito horas, para os equipamentos que não dispõem de registrador automático;
- Os registros de temperatura devem ser periodicamente revisados por uma pessoa qualificada;
- Os alarmes devem ser periodicamente testados, no mínimo a cada três meses, e deve haver um procedimento escrito, definindo a conduta a ser tomada em relação ao armazenamento das amostras, se houver falta de energia ou defeito nos equipamentos de estocagem;
- O volume de nitrogênio líquido, nos reservatórios deve ser controlado e registrado pelo menos duas vezes por semana;
- O setor deve dispor de um sistema de segurança, incluindo monitoramento da temperatura dos equipamentos de armazenamento, alarmes em casos de mau funcionamento, ou temperaturas excedendo os limites permitidos, e instruções de procedimentos corretivos de emergência, bem como plano de remoção do material em casos de sinistros.
- As alíquotas para a realização de testes laboratoriais devem ser acondicionadas, identificadas e armazenadas em temperaturas específicas controladas e segundo procedimentos documentados visando prevenir quaisquer trocas de amostras;
- As unidades de sangue periférico que necessitem de criopreservação, devem ser armazenadas a temperatura igual ou inferior a 80 °C negativos, sendo aceitável uma variação de até 4 °C acima dessa temperatura;
- As alíquotas de plasma e soro devem ser mantidas em temperatura ou inferior a 70 °C negativos.
- As unidades de criopreservadas devem ser acondicionadas em estojos para garantir a proteção durante os processos de criopreservação e armazenamento.

Fonte: Brasil (2006a, 2010).

4.1 Recipientes de armazenamento

Os recipientes para armazenamento variam de acordo com os tipos de amostras que estão sendo armazenadas e os objetivos analíticos do estudo. Durante a seleção do tipo de recipiente, deve-se considerar o uso, padronização e aplicabilidade em longo prazo [...]. Os rótulos de recipientes devem ser permanentes e capazes de suportar excursões de temperatura [tempo em que o material fica fora da condição de temperatura especificada] dentro e fora de condições fria e exposições a alta umidade em temperaturas ambiente, especialmente quando as amostras são retiradas de ambientes extremos. O material sensível à luz deve ser armazenado em recipientes que não permitem a penetração da luz, como frascos de âmbar ou sacos revestidos de âmbar (ISBER, 2010, p. 68).

Segundo WHO-IARC (2007, p. 5), “o LN₂ expande em torno de 800 vezes o seu volume original à temperatura ambiente, gerando um risco de explosão quando no interior do recipiente retirado do congelador contiver este líquido, especialmente para recipientes de vidro e plástico”. A ISBER (2012, p. 16) acrescenta que qualquer recipiente usado ou armazenado em

temperaturas criogênicas deve ser avaliado para essas temperaturas. Em todo caso, devem-se considerar, sempre, as recomendações do fabricante dos testes para determinação dos tipos de recipientes.

4.2 Equipamentos para guarda de material biológico

As seleções de equipamentos para guarda de material biológico baseiam-se em um conjunto de requisitos contidos em recomendações nacionais e internacionais, claramente apresentados pela ISBER (2012), a saber:

O tipo de espécimes a serem armazenados; o período esperado de armazenamento dos espécimes, o uso pretendido para os espécimes; os recursos disponíveis para a compra do equipamento; o tamanho e o design físico da área de armazenamento; o número de espécimes armazenados (bem como as previsões para o crescimento futuro em número de amostras armazenadas); [...], recursos humanos; questões de qualidade; e suporte e manutenção de equipamentos. (ISBER, 2012 p. 15).

Existe no mercado uma variedade de equipamentos para uso na guarda de material biológico, desde os mais simples aos mais sofisticados, com sistemas automatizados. Conforme já discuto em itens anteriores, a escolha do tipo de freezer depende, dentre outros, do tempo que se pretende armazenar as amostras e temperatura ideal para garantir a sua estabilidade. Em geral, quanto mais baixa a temperatura, mais longo será o prazo de armazenamento, desde que não seja excedida a temperatura crítica para o armazenamento do material. Em consulta a WHO-IARC (2007, p. 10), constata-se que, no geral, os equipamentos utilizados são:

- Refrigeradores: meio de armazenamento com temperatura entre 4 a 8°C, apropriado quando o material deve ser mantido fresco, mas não requer congelamento; bem como para armazenamento temporário até que ocorra a preparação do material biológico para armazenamento em ultrabaixa temperatura (*ver figura 18*).
- Congeladores mecânicos: são freezers utilizados numa variedade de temperatura de armazenagem, incluindo -20°C, -40°C, -70°C a -80°C e -140°C (*ver figura 19*). Estas unidades de armazenagem devem conter alarmes ajustados para disparar quando a temperatura aumentar em 20°C em relação à temperatura padrão para o seu funcionamento.
- Congeladores de nitrogênio líquido ou seu vapor: reservatório (contêiner) que são adequados para conter nitrogênio líquido ou vapor do nitrogênio líquido (*ver figura 20*). São apropriados para armazenar amostras criopreservadas em temperaturas dentro de uma escala, geralmente, de -130°C a -196°C. O nitrogênio torna-se líquido a -196 °C.

O armazenamento em fase de vapor é preferível ao armazenamento em fase líquida, pois evita alguns dos riscos de segurança inerentes ao armazenamento em fase líquida, por exemplo, o risco de transmissão de agentes infecciosos. Em contraste, o armazenamento em fase líquida requer um reabastecimento menos frequente de LN₂ e, portanto, oferece melhor segurança em caso de uma crise no suprimento de LN₂. O armazenamento criogênico usando LN₂ é um meio eficaz de armazenamento em longo prazo porque o frio extremo retarda a maioria das reações químicas e físicas que causam a deterioração das amostras.

- Gelo seco: o gelo seco ou dióxido de carbono em fase sólida é frequentemente usado como refrigerante durante o transporte de material biológico para outra localidade ou para backup de emergência para freezers mecânicos.

Estes equipamentos necessitam funcionar com temperatura controlada, portanto devem possuir registro da verificação da mesma.

Figura 16 – Refrigerador para armazenamento em temperaturas entre 2 a 8°C – Modelo RC430D. Fabricante: Idndrel Scientific.



Figura 17 – Congelador mecânico para armazenamento em baixas temperaturas – Modelo 88400D. Fabricante: Thermo Scientific.



Figura 18 – Congelador de nitrogênio líquido para ultrabaixa temperatura – Modelo: BCIV40. Fabricante: SP Scientific.



5. DESCARTE DE MATERIAL BIOLÓGICO

O descarte de material biológico e de resíduos de laboratório deve estar descrito no Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS) elaborado pelo setor de pesquisa, e deverá ser feito de acordo com a RDC/ANVISA nº 306, de 07 de dezembro de 2004, que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde (RSS). Este regulamento se aplica a todos os serviços relacionados com o atendimento à saúde humana ou animal, dentre estes, os estabelecimentos de ensino e pesquisa na área de saúde.

Esta resolução estabelece que todo gerador de resíduos deva elaborar um Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde - PGRSS, baseado nas características dos resíduos gerados e na classificação constante do Apêndice I desta mesma resolução, estabelecendo as diretrizes de manejo dos RSS.

O Apêndice I classifica os resíduos nos seguintes grupos:

Grupo A - resíduos com a possível presença de agentes biológicos que, por suas características, podem apresentar risco de infecção.

Grupo B - resíduos contendo substâncias químicas que podem apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade.

Grupo C - quaisquer materiais resultantes de atividades humanas que contenham radionuclídeos em quantidades superiores aos limites de isenção especificados nas normas do CNEN e para os quais a reutilização é imprópria ou não prevista.

Grupo D - resíduos que não apresentem risco biológico, químico ou radiológico à saúde ou ao meio ambiente, podendo ser equiparados aos resíduos domiciliares.

Grupo E - materiais perfurocortantes ou escarificantes, tais como: Lâminas de barbear, agulhas, escalpes, ampolas de vidro, brocas, limas endodônticas, pontas diamantadas, lâminas de bisturi, lancetas; tubos capilares; micropipetas; lâminas e lamínulas; espátulas; e todos os utensílios de vidro quebrados no laboratório (pipetas, tubos de coleta sanguínea e placas de Petri) e outros similares.

6. INSTALAÇÕES DAS ÁREAS PARA ARMAZENAMENTO DOS BIORREPOSITÓRIOS

A Portaria nº 2.201/2011 do MS estabelece que o biorrepositório e o biobanco devem adotar um conjunto de práticas, equipamentos e instalações voltados à prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, visando à saúde humana, à preservação do meio ambiente e à qualidade dos resultados e que, o Biorrepositório é de responsabilidade da instituição e o gerenciamento é de responsabilidade do pesquisador.

Conforme explicado no item 1, Biorrepositório é uma coleção de material biológico humano, coletado e armazenado ao longo da execução de um projeto de pesquisa específico. Estas coleções de material biológico, rotineiramente, são armazenadas em equipamentos das Unidades de Recursos Biológicos, juntamente com os Biobancos; em congeladores dos setores de pesquisas das instituições de saúde e/ ou ensino ou; informalmente em congeladores de outros setores da instituição.

Não se observa nas normativas vigentes no Brasil, elementos direcionando estas instituições sobre os padrões de instalações, especificamente, para as áreas aonde estas coleções de material biológico com a finalidade de pesquisa, deverão ser armazenadas. “Na ausência de

uma regulamentação específica para Biobancos e Biorrepositórios, existe uma orientação para adotar o que está preconizado na RDC ANVISA nº 33/2006. ” (OLIVEIRA, 2015, p. 31). Com este entendimento, as recomendações que seguem, baseiam-se, principalmente, nesta resolução e nas RDC’s ANVISA de números 50/2002, 56/2010 e 09/2011. Em complementariedade, foram observadas, também, as recomendações da ISBER (2012) e WHO-IARC (2007).

- Ambiente

A sala de armazenamento é o ambiente destinado a guarda de material biológico em equipamentos específicos e deve ser de uso e acesso exclusivo para tal finalidade. Deve ser projetado com espaço suficiente para acomodar o material planejado para armazenamento inicial, futuro e de backup e também permitir o movimento seguro de pessoas, equipamentos e espécimes, bem como limpeza e manutenção, conforme necessário ou conforme exigido por normativas específicas.

Se o Setor possuir sistema de armazenamento de amostras em tanques de nitrogênio líquido, ou se houver um sistema de segurança de nitrogênio para congelador mecânico com temperatura igual ou inferior a 150°C negativos, a sala de criopreservação e armazenamento deve contar com visualização externa do seu interior e a área deve conter, no mínimo, 16 m².

Ressalta-se que a RDC ANVISA nº 50/2002 estabelece que deva ser respeitado uma área de 2,0 m² por freezer ou refrigerador nas salas de armazenamento e, no caso de câmaras frias, vai depender do tipo de equipamento utilizado, devendo sempre consultar as recomendações do fabricante e das legislações vigentes. Os freezers acoplados à cilindro de LN₂ ou CO₂ devem ter espaço livre de, no mínimo, 12 cm na parte superior e traseira e no mínimo 20 cm em cada lado.

Outras recomendações desta Resolução são referentes ao piso: as superfícies de revestimento devem ser apropriadas para os equipamentos utilizados nas atividades diárias; deve ser fácil de limpar e facilitar o movimento do equipamento quando as circunstâncias o justificarem; não pode possuir índice de absorção de água superior a 4%; deve ser resistente à lavagem e ao uso de desinfetante e; o piso não pode apresentar declive, para que não tenha possibilidade de escoamento de água para baixo dos equipamentos. A ISBER (2012, p. 8) alerta que deve ser dada especial atenção ao piso em regiões onde o nitrogênio líquido é usado, pois o azulejo de vinil quebrará e causará um perigo se o nitrogênio líquido for derramado diretamente sobre ele.

- Eletricidade e iluminação

A RDC ANVISA nº 50/2002 preconiza que todas as instalações elétricas de um Estabelecimento de Saúde devem possuir um sistema de aterramento que leve em consideração a equipotencialidade das massas metálicas expostas em uma instalação, que todos os plugues elétricos da base devem estar em boas condições e que as voltagens específicas para as quais as unidades de armazenamento mecânico são calculadas para funcionar, devem ser respeitadas. Conforme já discutido, esta recomendação pode ser estendida às salas quem contém material biológico armazenado em Biorrepositórios. Além disso, o Setor de armazenamento deve dispor de duas redes de energia, uma ligada à energia comercial e outra ligada ao gerador, no caso de faltar energia o gerador é ativado automaticamente. Todos os freezers deverão estar ligados às tomadas de emergência que se conectam ao gerador.

Para este quesito, vale ressaltar algumas recomendações da ISBER (2012):

A iluminação pode ser geral (incandescente, fluorescente ou outra fonte apropriada) ou de tarefa (necessária para iluminar suficientemente materiais bem embalados, etiquetas de leitura ou onde a iluminação geral não está ao alcance). Ao utilizar a iluminação de tarefa, deve-se ter cuidado para que o método não afete a integridade da amostra e às condições de armazenamento, pois elas podem gerar calor adicional. A iluminação incandescente, colocada muito perto do material armazenado, pode fazer com que uma amostra descongele total ou parcialmente. Neste caso, é recomendável que se utilize uma iluminação fluorescente ou outro tipo de iluminação que não cria uma fonte de calor, para uso em iluminação de tarefas perto de materiais congelados. (ISBER, 2012, p. 8).

A iluminação deve ser planejada e usada apropriadamente durante o armazenamento e manuseio de determinados materiais biológicos, pois alguns têm sensibilidade para certas condições de iluminação.

- Sistemas Emergenciais de Energia

De acordo com a ISBER (2012, p. 9), os Biorrepositórios, geralmente, devem ser armazenados em ambientes de temperatura constante e, portanto, necessita de um sistema emergencial de energia elétrica. As fontes de alimentação ininterrupta, também chamada de "*backup de bateria*" mantém um fornecimento contínuo de energia elétrica aos equipamentos conectados quando a energia da rede elétrica não está disponível. Conforme consta no item anterior, o Gerador de Motor deve estar ligado aos equipamentos, para o caso de a energia comercial vir a faltar. Para que isto seja possível, "um *nobreak* [tradução: sem intervalo] é inserido entre a fonte de energia de utilidade comercial e o equipamento" (ISBER, 2012, p. 9),

quando ocorre uma falha de energia ou uma anormalidade, o *nobreak* irá efetivamente mudar a energia da rede elétrica para sua própria fonte de energia quase instantaneamente.

O Gerador de Motor é o tipo de energia de backup mais comum e mais utilizado, porém cilindros contendo nitrogênio líquido (LN₂) ou gás carbônico líquido (CO₂), conforme descritos mais adiante, também estão disponíveis e são acoplados aos freezers mecânicos, no caso de haver falha no resfriamento do sistema.

- Gerador – possuem controles automáticos que os fazem produzir eletricidade quando a energia comercial é interrompida. Tipicamente, são alimentados por diesel, gás natural ou propano.
- Nitrogênio Líquido (LN₂) – alguns freezers mecânicos de ultrabaixa temperatura são alimentados por um sistema de backup de LN₂ como fonte de energia (*ver Figura 21*). A opção de backup LN₂ é instalada no painel do congelador. É colocado dentro do freezer um recipiente para nitrogênio líquido refrigerante e um sensor de temperatura. Um cilindro de nitrogênio criogênico é conectado ao freezer através de um tubo. Uma das extremidades do tubo é inserida dentro do recipiente no interior do freezer e a outra é colocada no tanque criogênico. Em funcionamento, caso ocorra alteração de temperatura em nível superior ao limite pré-programado, o sistema de alarme é ativado pelo equipamento e, imediatamente, será injetado criogênio de reserva no congelador para manter a temperatura predefinida. O fluxo de líquido é desligado automaticamente quando a porta ou tampa do congelador é aberta, pois o interruptor de bloqueio de segurança da porta evita a injeção de criogênico se a porta do congelador for aberta. O sistema é alimentado por bateria recarregável. A luz de baixa bateria indica quando a mesma precisa ser carregada. Qualquer congelador que implemente este tipo de sistema de resfriamento de emergência deve ser projetado especificamente para acomodar o material biológico adequado para o método e em quantidade preestabelecida.
- Dióxido de Carbono Líquido (CO₂) – alguns freezers mecânicos de ultrabaixa temperatura podem ser alimentados, ainda, por um sistema de backup de CO₂ como fonte de energia. Esta fonte possui o mesmo princípio de funcionamento do LN₂, a diferença é que ao invés de utilizar nitrogênio líquido, o cilindro contém o líquido refrigerante, gás carbônico líquido, como fonte de energia.

O sistema de backup empregado deve ser determinado com base em uma avaliação de gerenciamento de risco da instalação, região e recursos disponíveis.

Figura 19 – Freezer mecânico modelo DW-86L388J. Fabricante: Haier Biomedical. Um cilindro contendo nitrogênio líquido refrigerante está conectado ao freezer, à direita. Na parte frontal do freezer está instalado o painel de sistema backup e a parte superior, contém o interruptor de energia de reserva.



- Climatização

Normalmente, as salas de armazenamento de material biológico precisam manter a temperatura ambiente dentro de limites definidos. Segundo recomendações da WHO-IARC (2007, p. 7), os aparelhos de ar condicionados devem resfriar o local o suficiente de modo a manter a temperatura ambiente em torno de 22°C, a fim de evitar o excesso de carga nos sistemas de compressores de freezers mecânicos e refrigeradores, ao mesmo tempo ser capaz de manter a temperatura aquecida o suficiente de modo a evitar o congelamento de água nas linhas de drenagem. Uma temperatura ambiente superior à indicada “pode resultar em desgaste excessivo e falhas precoces dos equipamentos”. (ISBER, 2012, p. 7).

- Fluxo de ar

A sala de armazenamento de biorrepositórios deve ter uma circulação de ar adequada, com quantidade necessária de ar condicionado para entrada de ar frio, com sistema de exaustor instalado atrás de cada freezer para saída de ar quente e respeitando o espaço entre os equipamentos. Para a ISBER (2012, p. 7), estes cuidados evitarão a acumulação excessiva de calor, umidade e condensação, pois tais eventos são capazes de afetar a função do compressor

dos freezers e de levar ao crescimento de fungos, podendo afetar a integridade da amostra, além de causar problemas de saúde para o pessoal.

“As salas que contêm tanques LN₂ devem ser equipadas com sistemas de fluxo de ar apropriados acoplados a um sistema de alarme de nível de oxigênio para evitar o acúmulo de N₂ em caso de vazamento”. (WHO-IARC, 2007, p. 7). Nas RDC's ANVISA supracitadas constam que neste sistema, deve ter descarga para o ambiente externo do prédio e com entrada de gás oxigênio, garantindo os níveis adequados deste gás no ambiente, e que o sistema de exaustão mecânica deva manter uma vazão mínima de ar total de 75 (m³/h) / m² e que as grelhas de captação do sistema de exaustão mecânica devem ser instaladas próximas ao piso.

7. SISTEMA DE SEGURANÇA E MANUTENÇÃO DOS EQUIPAMENTOS

✓ Sistema de segurança para o bom funcionamento dos equipamentos

As instituições que utilizam tanques de Nitrogênio Líquido ou CO₂ como fonte de energia para congelador mecânico, nas práticas de armazenamento de material biológico, devem possuir alarmes sonoro e visual, interno e externo à sala de armazenagem, que alertem para possíveis falhas no suprimento de nitrogênio líquido e/ou gás carbônico do equipamento de armazenagem e termômetro para monitoramento de temperatura ambiental, que indique valores máximo e mínimo. Quando utilizados congeladores mecânicos, estes devem possuir sistema de alarme sonoro e visual para sinalizar condições de temperatura fora dos limites especificados.

Os gases produzidos pela evaporação de LN₂ e CO₂ são muito frios e queima a pele, quando desprotegida, portanto, total cuidado deve ser tomado para não deixar cair os cilindros contendo estes gases. O gás LN₂ produzido pela evaporação não é tóxico, mas desloca o oxigênio do ar e pode causar asfixia, tornando-se mortal, por esta razão, a sala de armazenagem que utiliza nitrogênio deve possuir sensor do nível de oxigênio ambiental com alarme. Óculos e roupas de proteção devem sempre ser usados quando estiver trabalhando nos sistemas contendo LN₂ e CO₂.

Freezers de backup devem estar disponíveis para guarda de material biológico em Biorrepositórios, caso haja qualquer falha no equipamento de armazenagem. Para garantir que os sistemas de energia de backup funcionem de forma confiável quando necessário, eles devem ser testados rotineiramente.

Todos os sistemas de segurança eletrônicos informatizados, como, monitoramento ambiental, sensores de oxigênio, sistemas de ventilação e monitores dos sistemas de nitrogênio

líquido, devem ser protegidos por um nobreak e a capacidade de armazenamento da CPU deve ser testada, no mínimo, anualmente.

✓ Sistema de acesso

Todo setor que contenha amostra biológica armazenada em Biorrepositório deve empregar sistemas básicos de segurança para acesso à sala de armazenamento de material biológico para garantir a proteção dos espécimes armazenados. A ISBER (2012), com base nas melhores práticas adotadas internacionalmente, lança as seguintes recomendações:

- As áreas que contenham recursos biológicos para fins de pesquisa devem ser equipadas com um sistema que limita adequadamente o acesso às pessoas autorizadas. As portas devem ser bloqueadas e o acesso deve ser, de preferência, por meios que controlam e gravam a entrada, como os magnéticos (*Figura 22*). Quando forem empregadas chaves mecânicas, dá-se preferência às que não podem ser facilmente duplicadas. Deve ser mantido registro no sistema eletrônico de cada pessoa que tenha acesso aos Biorrepositórios. Somente as pessoas designadas pelo Gestor devem ter acesso ao material armazenado. Freezers ou equipamentos de armazenamento ambiental que guardam amostras valiosas ou sensíveis devem ser bloqueados individualmente;

NOTA: Recurso Biológico é “uma coleção de espécimes biológicos e seus dados associados, adquiridos para um propósito definido.” (WHO-IARC, 2017, p. 2).

- Um sistema de alarme deve ser instalado para detectar a entrada de pessoas não autorizada, bem como detectores de movimento e sensores de abertura de porta. Conforme apropriado, o sistema deve gerar mudanças nos códigos e chaves de segurança;

- Deve ter disponível um profissional responsável para responder frente às condições contingenciais, a qualquer momento, para impedir ou minimizar a perda ou danos aos materiais armazenados. Quando utilizado monitoramento com sistemas de chamadas remotos em resposta à emergência, os sistemas devem iniciar chamadas para outro funcionário treinado quando o primeiro indivíduo não reconhecer o alarme;

- Uma política de acesso deve ser desenvolvida para visitantes às áreas que contenham material biológico armazenamento em Biorrepositório. Quando exequível e apropriado, folhas de registro escrita ou eletrônica, ou outros meios devem ser empregados para registrar, por exemplo, o nome do visitante e o propósito da visita. Os registros devem ser mantidos e arquivados de acordo com as práticas de arquivo estabelecidas pelo setor. Os visitantes devem ser acompanhados pela equipe em todos os momentos durante sua visita. É importante que os

visitantes recebam crachás de identificação indicando claramente ao pessoal que eles foram formalmente recebidos e sua presença documentada.

Figura 20 – Acesso magnético por meio de crachá de funcionário autorizado – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (2016).



✓ Sistema de segurança contra incêndio

Para prevenir incêndio em estabelecimentos de saúde que contenha armazenamento de material biológico, a RDC ANVISA nº 50/2002 aprovou as seguintes diretrizes: o deve ser dotado de portas resistentes ao fogo com fechamento permanente. Ressalta-se que “Fechamento” significa porta encostada, e não bloqueada ou chaveada. As portas devem ser "de abrir" e nunca "de correr" ou giratórias. Todas as saídas de emergência têm de estar sinalizadas. É recomendável que haja sinalização nas paredes e pisos, porque a fumaça pode encobrir a sinalização mais alta. As circulações devem contar com sinais indicativos de direção desde os pontos de origem de evacuação até os pontos de saída. Toda porta que não seja saída, deve ser sinalizada com o rótulo "SEM SAÍDA".

Esta mesma Resolução, recomenda que o setor deva instalar sistema de detecção de incêndio com **dispositivos de entrada** (detectores automáticos, acionadores automáticos e acionadores manuais); **centrais de alarme** (painéis de controle individualizados); **dispositivos de saída** (indicadores sonoros, indicadores visuais, painéis repetidores, discagem telefônica automática, desativadores de instalações, válvulas de disparo de agentes extintores, fechamento de portas CORTA-FOGO e monitores); e **rede de interligação** (conjuntos de circuitos que interligam a central com os dispositivos de entrada, saída e as fontes de energia do sistema). A extinção do fogo pode ser feita por extintores móveis e hidrantes de parede, ou a combinação

de ambos. As instalações automáticas de extinção são indicadas para zonas de alto risco e cujo conteúdo seja de grande valor.

✓ Alarmes para Equipamentos de Armazenagem

A RDC ANVISA nº 33/2006 recomenda que todos os alarmes devam ser precisamente identificados e instalados em locais que permitam a sua observação constante e total. Esse alarme deve ser sonoro e visual, sendo que este último só pode ser apagado com o restabelecimento das condições originais. Todos os alarmes precisam ser testados periodicamente.

✓ Manutenção dos equipamentos

Considerando, ainda, as recomendações da RDC ANVISA nº 33/2006, o setor deve manter os equipamentos de medição calibrados, além de fazer os respectivos registros de calibração e registros da origem e série dos equipamentos utilizados na calibração a fim de garantir a rastreabilidade. Deve, ainda, manter e implementar um programa de manutenção preventiva e corretiva de todos os equipamentos, onde conste um cronograma de intervenção. Os sistemas de fonte de energia ininterrupta devem ser incluídos em um plano de manutenção preventiva frequente. Os fatores críticos para os sistemas e equipamentos determinarão a periodicidade dos testes preventivos. Todas as intervenções realizadas nos equipamentos devem ser registradas sistematicamente em planilhas, informando dia, responsável pela intervenção, descrição da intervenção e, em caso de substituição de peças, lista das peças substituídas.

Deve ser mantido registro diário das condições dos equipamentos, refrigeradores, congeladores ou reservatórios de armazenamento, documentando a temperatura, nível de CO₂, de nitrogênio e oxigênio, quando for o caso. As planilhas de controle das rotinas de uso e manutenção dos equipamentos e instrumentos devem ficar disponíveis para consulta. Os equipamentos que necessitem funcionar com temperatura controlada devem possuir registro da verificação da mesma, de forma periódica e definida pelo serviço em documentos escritos.

Outras recomendações são apontadas pela RDC ANVISA nº 09/2011, quais sejam: os registros devem ser assinados e periodicamente revisados por uma pessoa qualificada; deve haver um procedimento escrito, definindo a conduta a ser tomada em relação ao armazenamento das amostras caso haja defeito nos equipamentos de estocagem; e o volume de nitrogênio líquido, nos reservatórios deve ser controlado e registrado na frequência definida pelo Setor.

8. RECURSOS HUMANOS

As orientações que seguem para estruturação dos Recursos Humanos são baseadas na RDC ANVISA nº 56/2010:

- O Setor deve dispor de uma estrutura administrativa e técnico-científica. A equipe profissional deve ser em quantidade suficiente e com formação e capacitação compatível com as atividades executadas;
- O serviço deve promover um processo contínuo de capacitação, compatível com as funções desempenhadas pelo profissional, e manter disponíveis os respectivos registros;
- Para fins de comprovação de qualificação e capacitação poderão ser apresentados diplomas, declarações, cartas de recomendação, atestados, cartas oficiais, dentre outros congêneres;
- Ações de capacitação realizadas no próprio laboratório também poderão ser apresentadas, desde que estejam devidamente documentadas;
- A responsabilidade técnica pelo setor deve ficar a cargo de um profissional com capacitação comprovada na área, e com registro no respectivo Conselho de Classe;
- A equipe técnico-científica deve garantir que as tarefas atribuídas sejam realizadas de acordo com os POP's preestabelecidos pelo setor. Os deveres de cada membro da equipe devem coincidir com descrições de trabalho escritas.

9. REGISTRO, IDENTIFICAÇÃO E RASTREABILIDADE DAS AMOSTRAS ARMAZENADAS E INFORMAÇÕES ASSOCIADAS

9.1 Registro

Os setores com área de armazenamento de material biológico devem ter sistema de registro para as amostras armazenadas em Biorrepositórios, bem como seus dados associados, que sejam facilmente recuperáveis e que permita a rastreabilidade do material biológico armazenado, desde a sua obtenção até o seu destino final, incluindo a sua análise laboratorial. A WHO-IARC (2007, p. 11) recomenda que os registros devem ser criados e mantidos de uma maneira que permita a rastreabilidade total dos eventos, tais como: “consentimento informado, coleta, processamento, preservação, testes, revisão de registros e rotulagem”. A RDC ANVISA 33/2006 preconiza que os arquivos de documentos e registros referentes aos bancos de células e tecidos germinativos devem estar disponíveis por todo o período de armazenamento das amostras, e por um período mínimo de 20 anos após a sua utilização. Os registros são relativos,

dentre outros: aos dados do (a) doador (a); dados da coleta do material biológico; dados de acondicionamento e transporte; processamento, criopreservação e armazenamento; parâmetros qualitativos iniciais e finais; data e motivo do descarte das amostras, quando couber; identificação do executor; Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelo (a) doador (a) ou seu responsável legal. No caso específico dos Biorrepositórios, deve-se considerar, além destes, outros dados que o pesquisador julgar relevante para análise do resultado da pesquisa.

A Resolução sugere, ainda, que os arquivos de registros podem ser mantidos pelos seguintes meios: eletrônico ou microfilmagem ou em livros de registro manual. No caso de uso de informática ou microfilmagem, os dados devem ser armazenados em duas cópias (um backup) e o banco deve comprovar que o sistema não permite fraudes ou alterações de dados e devem estar acessíveis para inspeção por auditoria interna e externa, autorizadas. Caso haja necessidade de alteração em algum registro, manual ou informatizado, deve haver a identificação do profissional que realizou a alteração. Este item merece uma ressalva, para os Biorrepositórios, pois em alguns casos pode ser necessário destruir ou remover espécimes, a pedido dos participantes do estudo ou por invalidade da amostra. Nestas circunstâncias, os registros devem ser adequadamente alterados para indicar que o espécime já não faz parte da coleção e o sistema de gerenciamento de informações deve ser adequadamente atualizado para sinalizar esse evento.

No caso do uso de livros de registro manual, deve haver um livro de registro de entrada constando as informações relacionadas à amostra e ao doador, tais como: data da coleta; identificação numérica ou alfanumérica da amostra coletada; nome completo do doador; tipo e quantidade de amostra e alíquotas coletadas.

Outros pontos importantes estão dispostos na RDC ANVISA nº 09/2011 que dispõe sobre os requisitos mínimos para o funcionamento de Centros de Tecnologia Celular (CTC) de células humanas e seus derivados para fins de pesquisa clínica e/ou terapia a qual determina que todos os registros devem ser de caráter confidencial, estando o sistema que mantém os registros, bloqueado por meios definidos pela instituição.

Na falta de legislação específica para setores que armazenam coleções biológicas em Biorrepositórios, estes sistemas de registros de arquivos descritos acima podem ser empregados. Faz-se necessária uma ressalva quanto ao tempo que os arquivos devem ser mantidos, pois as legislações nacionais em que estabelecem os prazos mínimos para registro dos materiais biológicos armazenados e suas informações associadas são para utilização terapêutica e varia muito, dependendo da finalidade do material armazenado. No que concerne

ao registro de informações sobre amostras armazenadas para fins de pesquisa, internacionalmente a WHO-IARC (2007, p. 11) estabeleceu que os registros dos dados referentes às amostras armazenadas em repositórios biológicos devem ser mantidos por pelo menos 10 anos após o término do armazenamento da amostra ou distribuição desta. Como no Brasil ainda não tem uma legislação que oriente tal conduta, a instituição deve determinar o período de manutenção dos registros referentes ao material biológico armazenados em Biorrepositórios, levando-se em conta a natureza do registro e normativas nacionais vigentes.

Quando houver necessidade de se fazer correções ou alterações em um registro de cópia impressa, estas devem ser feitas com uma única linha desenhada sobre o texto alterado. As correções devem ser assinadas e datadas pelo indivíduo que fez a correção ou mudança. As mudanças nos registros eletrônicos devem ser anotadas e rastreadas. As alterações rastreadas devem incluir o nome do indivíduo que faz a mudança, a hora e a data em que a mudança foi feita e o motivo da alteração. “As datas devem implementar um formato que não seja ambíguo, como ddmmyyyy, onde d significa dia, m significa mês e y significa ano”. (ISBER, 2012, p. 48, *tradução nossa*).

Os registros eletrônicos devem ser periodicamente copiados para uma rede ou servidor remotos seguros. Os computadores operados contendo os registros devem ser protegidos por senha e devem usar mecanismos de tempo de espera automáticos que bloqueiam o computador (por exemplo, protetor de tela). Devem ser definidas as pessoas com autorização para acessar os registros e a instituição deverá disponibilizar a permissão ao acesso.

9.2 Identificação

A OMS (2005) prevê que o participante da pesquisa receba um Código de Identificação que é utilizado, ao invés do nome, pelo pesquisador em situações específicas. Este código corresponde a um “identificador único [ID] que o pesquisador designa a cada participante do estudo de forma a proteger sua identidade.” (OMS, 2005, p. 52). Por outro lado, a ISBER (2012, p. 58) dispõe que as amostras coletadas devem ser identificadas com um código ou identificação exclusiva (ID), não constando nenhuma informação relacionada ao sujeito da pesquisa ou sobre seu ID, de forma a proteger a sua privacidade e a confidencialidade, ao mesmo tempo em que seja possível estabelecer de forma segura, vínculo com todas as etapas de manipulação da amostra e ao participante.

A RDC ANVISA 33/2006 preconiza que cada uma das alíquotas obtidas a partir da amostra deve receber a mesma identificação desta, e a identificação deve ser feita com etiquetas resistentes a baixas temperaturas e impermeáveis, seguindo as informações do fabricante sobre

as condições de resistência da etiqueta. Para a identificação do doador e sua respectiva amostra, esta Resolução recomenda que seja atribuído um sistema numérico ou alfanumérico. A identificação deve acompanhar todo o material durante os testes, processamento, criopreservação, armazenamento, descongelamento e liberação.

Exemplo prático destas orientações pôde ser observado por Güttler (2016)¹⁰ quando acompanhou a organização de dois tipos de Biorrepositórios no Hospital de Clínicas de Porto Alegre/HCPA durante o seu estágio supervisionado. Um dos Biorrepositórios pertence a “uma investigação multicêntrica de coorte, composta por seis instituições públicas de ensino superior e pesquisa das regiões, Sul, Sudeste e Nordeste do Brasil” (Güttler, 2016, p. 6. Trabalho não publicado). O outro se trata de um ensaio clínico randomizado, também multicêntrico. As formas de organização para os dois Biorrepositórios são muito similares, as quais serão explicadas a seguir:

No quesito cadastro do participante da pesquisa e geração do ID do participante, Güttler (2016) explica que:

No momento em que o sujeito decide participar da pesquisa para a qual foi convidado (a), é realizado o seu cadastro por um membro da equipe treinado para tal, constando as informações do participante, com isso, eles recebem automaticamente um código de identificação (ID), que é único para cada sujeito e que fica em outro cadastro separado das informações a eles associadas. O material biológico obtido para os dois projetos, são encaminhados para exames, e alíquotas são armazenadas em Biorrepositório do hospital [...]. (GÜTTLER, 2016, p. 6).

Baseado nestas informações foi elaborado um modelo de formulário, visando a criação do sistema de cadastro do participante da pesquisa e geração do ID (Identificador Único) do participante, o qual está disposto ao final deste Manual no APÊNDICE J.

Após realizar a coleta do material biológico no estudo supracitado, o mesmo é encaminhado para processamento. Nesta etapa, Güttler (2016) dá a seguinte explicação:

Na sala de processamento, a técnica [...] anotou a hora de chegada das amostras e as colocou em um recipiente com gelo, em seguida preparou os criotubos para armazenamento das alíquotas [...]. Os tubos contendo o material biológico dos (as) participantes continham aproximadamente 04 mL, os quais foram centrifugados e posteriormente alíquotadas em 04 alíquotas de 01 mL para cada amostra, 03 destas alíquotas foram reservadas para coleção de Biorrepositório e guardadas no centro compartilhado de material biológico da instituição [Figura 21] e 01 alíquota foi encaminhada ao laboratório para realização de exames [...]. O horário de término do processamento foi anotado pela técnica e tanto as alíquotas dos Biorrepositórios como para os exames

¹⁰ GÜTTLER, M. C. S. Relatório Final de Estágio Supervisionado do Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, 29 p. Trabalho não publicado.

foram acondicionados em uma caixa térmica com gelo para transporte, para serem distribuídas no local de armazenamento dos Biorrepositórios e no laboratório, respectivamente. (GÜTTLER, 2016, p. 6).

No que se refere à rotulação e registro do material biológico coletado, Güttler (2016) explica que o procedimento ocorreu da seguinte forma:

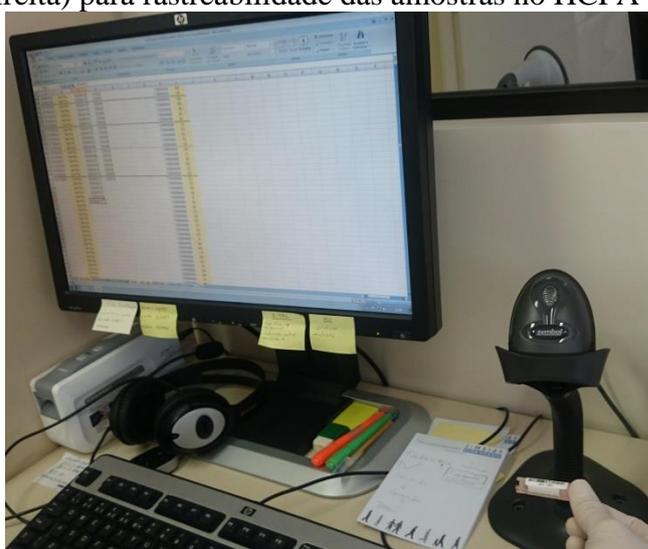
As amostras chegaram à sala de processamento do laboratório no Centro de Pesquisa Clínica/CPC, identificadas pelo ID do participante, sem nenhuma informação referente ao sujeito da pesquisa. Um sistema de computador, criado exclusivamente para gerenciar os projetos, geram automaticamente as etiquetas com o ID do participante que são coladas nos tubos para coletas. Em uma planilha em Excel, nos computadores do laboratório, a técnica registrou esses números contidos nas etiquetas de cada tubo para coleta, cabe destacar que estes computadores possuem dois discos de armazenamento, sendo um para backup. As etiquetas presentes no tubo de coleta foram reservadas. Em seguida foram geradas pelos computadores do laboratório, etiquetas contendo códigos de barras a serem coladas nos criotubos que iriam receber as alíquotas, tanto para os exames quanto para a bioteca (Biorrepositórios) e para o Controle de Qualidade. O código é uma sequência de números que corresponde, cada um, a alguma informação, como, o número do projeto, número diferenciado para tipos de tubo do laboratório, número específico para o participante e ordem da amostra, sendo que cada código é exclusivo para cada amostra. Essas etiquetas com os códigos de barra foram impressas em material adesivo, próprio para criogenia, e coladas nos criotubos. Cada código de barra foi associado ao número de identificação única de cada tubo registrado na planilha em Excel [Figura 22]. Com isso, é possível separar a identificação [desidentificação] das alíquotas armazenadas na bioteca, dos números de registros das amostras coletadas, e ao mesmo tempo garantir a sua localização quando necessário, bastando ler o código de barra presente no tubo. Quando quiser recuperar o ID da amostra originária, basta ler o código de barras presente no criotubo contendo a alíquota. É pertinente frisar que a leitura em código de barra permite localizar o cadastro das amostras, bem como a localização de suas alíquotas no equipamento de armazenagem e não as informações referentes ao participante da pesquisa, garantindo a privacidade e confidencialidade das informações associadas à amostra e ao participante de pesquisa. (GÜTTLER, 2016, p. 6).

Considerando, ainda, tais informações, foi desenvolvido um modelo de formulário, visando à criação do Sistema de Cadastro de Amostra Biológica e geração do ID (Identificador Único) da amostra armazenada, o qual está disposto ao final deste Manual, no APÊNDICE K.

Figura 21 – Freezers do Centro Compartilhado de Material Biológico do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/HCPA (2016).



Figura 22 – Monitor de computador (à esquerda) mostrando Planilha em Excel contendo o registro de ID das coleções de amostras de dois tipos de Biorrepositórios, e Leitor de Código de Barras (à direita) para rastreabilidade das amostras no HCPA (2016).



9.3 Rastreabilidade

Rastreabilidade é a “capacidade de recuperação do histórico, da aplicação ou da localização daquilo que está sendo considerado, por meio de identificações registradas” (BRASIL, 2015, p. 2).

A instituição que armazena material biológico para pesquisa, seja como Biorrepositório ou Biobanco, dispõe de uma variedade de forma que possa ser adotada, para permitir a manutenção efetiva dos registros e melhorar a consistência no rastreamento e monitoramento das amostras e informações associadas. Exemplos de “formas efetivas incluem formulários ou planilhas eletrônicas nos quais deve constar a data em que a versão foi criada.” (ISBER, 2012, p. 47).

Um exemplo de ferramenta que permite identificar as amostras e ao mesmo tempo rastrear as informações associadas à coleta, processamento e armazenamento, é o Código PREanalítico Padrão / em inglês, “*Standard PREanalytical Code*” (SPREC), desenvolvido pelo Grupo de Trabalho de Ciências Biológicas e Ambientais da ISBER.

O código SPREC é um sistema de codificação determinado pelas condições pré-analíticas padrão obtidas durante a manipulação do material biológico humano, como fluidos corporais, biospecimens sólidos e seus derivados simples. Para a rotulagem de cada amostra, é atribuído um código de sete elementos que identifica às principais variáveis pré-analíticas. Estes elementos possuem uma ordem definida, com letras pré-estabelecidas para cada variável, separados por seis hifens, como bem explica Betsou et. al (2010):

O primeiro elemento do código corresponde ao tipo de amostra, tanto para fluidos corporais como para bioespécimen sólidos; o segundo elemento do código corresponde à – tipo de recipiente primário para fluidos e tipo de coleta para bioespécime sólida; o terceiro elemento do código é relativo ao tempo e temperatura da pré-centrifugação para fluidos e tempo de isquemia quente para sólidos; o quarto elemento do código indica o método da primeira centrifugação para fluidos e tempo de isquemia fria para sólidos; o quinto elemento do código corresponde à segunda centrifugação para fluidos e tipo de fixação para sólidos; o sexto elemento de código designa o tempo e temperatura de pós-centrifugação para fluidos e tempo de fixação para sólidos e; o sétimo elemento do código designa à condição de armazenamento tanto para fluidos corporais como para amostras sólidas [...]. Por exemplo, uma amostra cujo rótulo consta os seguintes elementos de códigos SER-SST-A-E-N-A-G. Isto corresponde a uma amostra de soro (SER) que foi coletada de um tubo de coleta de soro (SST), cujo atraso de pré-centrifugação é <2 horas à temperatura ambiente (A); a centrifugação foi feita à temperatura ambiente de 3.000 a 6.000 g com travagem (E). Apenas um passo de centrifugação foi feito (N) e o atraso entre centrifugação e congelamento foi <1 hora em 3°C a 7°C (A). O soro foi armazenado em palhetas a uma temperatura entre -85°C e -60°C (G). (BETSOU et al. 2010, p. 1006, *tradução nossa*).

Estes códigos devem ser integrados ao sistema de cadastro eletrônico das amostras do Biorrepositório, de modo que estejam dissociados das informações relativas ao sujeito da pesquisa.

10. CONTROLE DE QUALIDADE

A ANVISA através de diversas RDC's, como a de nº 56/2010 prevê que os laboratórios devem implantar um sistema da garantia da qualidade de seus processos, o qual deverá incluir, dentre outros: a realização de procedimentos, com base em protocolos definidos e, quando couber, validados; procedimentos para detecção, registro, correção e prevenção de erros e não conformidades, incluindo a realização de controle de qualidade interno do laboratório e controle de qualidade da unidade; e a rastreabilidade de todos os seus processos. Esta resolução preconiza ainda que, quando estiverem resultados fora dos critérios predefinidos, devem ser realizadas ações para corrigir o problema e evitar resultados incorretos, mantendo-se os registros dos erros, não conformidades e medidas adotadas; e relatórios de avaliação contendo as ações corretivas e preventivas adotadas devem ser emitidos.

Sobre este tema, a OMS (2005) apresenta os seguintes conceitos:

Controle de Qualidade (CQ) são as técnicas e atividades operacionais desempenhadas dentro do sistema de garantia de qualidade para confirmar que as exigências de qualidade das atividades relativas ao estudo foram cumpridas [...], Garantia da Qualidade (GQ), por sua vez, são todas as ações sistemáticas planejadas estabelecidas para garantir que o estudo está sendo conduzido e que os dados são gerados, documentados (registrados) e relatados em consonância com as boas práticas clínicas (BPC) e as exigências regulatórias aplicáveis (BPC). (OMS, 2005, p. 56).

Diversas ferramentas de gestão da qualidade para atingir excelência nos resultados estão disponíveis, como, *Esquema Cinco-Q*, *Fluxograma*, *Folhas de PDCA* (Planejar, Executar, Verificar, Agir), *Análise SWOT*, *Seis Sigma*, *Análise de Modos de Falhas e Efeitos* (FMEA), e outros. Cada uma é indicada para ações específicas, seja processo, produto e serviço, e exige uma avaliação por parte dos gestores e profissionais envolvidos nas atividades, na hora de incorporar à instituição.

11. PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO (POPS)

Cada unidade de armazenamento de material biológico, segundo a (ISBER, 2012, p. 25, *tradução nossa*) “deve desenvolver políticas e procedimentos escritos e padronizados para garantir que todas as amostras sejam adequadamente e consistentemente coletadas e armazenadas”.

A RDC ANVISA nº 33/2006 preconiza que os POPS devem ser revisados de forma regular e rotineira ou em resposta a incidente e falhas, em conformidade com o sistema de Gestão de Qualidade, e assinado e datado pelo responsável técnico do Setor.

As duas recomendações acima estão em consonância com OMS (2005, p. 5) que considera a necessidade de se estabelecer diretrizes para “garantir que os dados obtidos com a pesquisa sejam armazenados de forma adequada e que possam ser confirmados, independentemente de onde o estudo for conduzido”. Nesta perspectiva a elaboração e uso de Procedimento Operacional Padrão embasado nas normatizações e evidências científicas pertinentes, se apresenta como um instrumento de gestão potente, dando diretiva às novas formas de ser fazer a prática.

Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) são “instruções escritas detalhadas para alcançar a uniformidade na execução de uma função específica” (OMS, 2005, p. 25). Com a criação ISO (Organização Internacional de Normalização; em inglês: *International Organization for Standardization*) em 1947, em Genebra, foram desenvolvidas as normas técnicas ISO (ISO 9000; ISO 9001; ISO 9004 e ISO 19011) para implementar e operar sistemas de gestão de qualidade eficazes em apoio às organizações, de todos os tipos e tamanhos, a nível mundial, a fim de promover a padronização de seus produtos e serviços.

As empresas brasileiras, especialmente a partir da década de 90, foram expostas aos efeitos da abertura do mercado e da globalização e precisaram rever seus processos produtivos para implantar os sistemas da qualidade, requeridos pelas normas da série ISO 9000. “Uma das exigências para obter a certificação ISO 9000 é que as empresas documentem todas as suas atividades ou seus processos” (PEINADO, 2004, p. 141).

O Procedimento Operacional Padrão (POP), seja técnico ou gerencial, “é a base para garantia da padronização de suas tarefas e assim permitirem a seus usuários um serviço ou produto livre de variações indesejáveis na sua qualidade final” (DUARTE, 2005, p. 1).

A sequência dos passos a serem seguidos nos POP's pode ser apresentada sob a forma de texto ou na forma gráfica (Fluxograma). “Fluxogramas são formas de representar, por meio

de algoritmos, cada um representando uma característica definida, a seqüência dos passos de um trabalho para facilitar sua análise” (PEINADO, 2004, p. 149).

Para a correta compreensão dos fluxogramas, é fundamental o conhecimento do que cada símbolo padrão, utilizado em sua construção, representa:

Oval - cada algoritmo começa com um desenho oval, representando uma característica definida.

Círculo grande ou figura oval - usado como “saída”, ou seja, a cada vez que um processo chega a uma etapa conclusiva. Desse elemento gráfico não partem flechas, é figura de encerramento.

Hexagonal/losango - as decisões mais importantes são representadas pelos hexágonos ou losangos, os quais têm somente dois possíveis desfechos: sim ou não (pontos dicotômicos). São decisivos para os próximos passos e, por isso, são denominados pontos de decisão.

Retângulos – representa grupos específicos do processo nos quais as intervenções devem ser realizadas.

Círculos pequenos - uma ligação com outra parte da diretriz clínica. Isto elimina a seta que iria para trás ou um entrecruzamento.

(WERNECK, 2009, p. 59)

Quanto ao POP apresentado na forma de texto, a EBSEH (2014) descreve através do Manual de Padronização de POPs que o Procedimento Operacional Padrão deve conter, dentre outros, os seguintes elementos: nome do procedimento; histórico de revisões; objetivo; documentos relacionados; local de aplicação; responsável pelo procedimento (cargo); procedimento contendo as informações gerais e a descrição das tarefas; e referenciais teóricos. O Manual de padronização da EBSEH explica, ainda, que uma vez a instituição tenha definido a formatação de seus POPs, este padrão deve ser seguido tanto pela Sede como pelas filiais da referida instituição. Além disso, o Manual chama a atenção para o fato de que:

Os Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) são documentos imprescindíveis para o exercício de qualquer tarefa realizada com qualidade, eficiência e eficácia, obedecendo critérios técnicos e observando normas e legislação das áreas pertinentes. Os POPs servem de veículo para que as informações acerca dos mais diversos processos cheguem com segurança ao executor. (EBSEH, 2014, p. 7).

REFERÊNCIAS

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Sistemas de Gestão de Qualidade – Fundamentos e Vocabulário. Segunda Edição. ABNT NBR ISO 9000:2005 35 p. ABNT, 2005.

BAIN, Bárbara J. Células Sanguíneas. 5ª ed. Artmed. Porto Alegre, 2016.

BETSOU, Fotini, et al. ISBER/ International Society for Biological and Environmental Repositories. Working Group on Biospecimen Science. Standard Pre-analytical coding for biospecimens: Defining the sample PREanalytical Code (SPREC). Cancer Epidemiol Biomarkers Prevention. 19 (4):1004–1011, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 50. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde.** Brasília, 2002.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 306. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.** Brasília, 2004.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 33. **Aprova o Regulamento técnico para o funcionamento dos bancos de células e tecidos germinativos.** Brasília, 2006a.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 306. **Regulamento técnico para o funcionamento dos bancos de células e tecidos germinativos.** Brasília, 2006b.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Serviços de Saúde: higienização das mãos em serviços de saúde.** Brasília 2007.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 56. **Dispõe sobre o regulamento técnico para o funcionamento dos laboratórios de processamento de células progenitoras hematopoéticas (CPH) provenientes de medula óssea e sangue periférico e bancos de sangue de cordão umbilical e placentário, para finalidade de transplante convencional e dá outras providências.** Brasília, 2010.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 09. **Dispõe sobre o funcionamento dos Centros de Tecnologia Celular para fins de pesquisa clínica e terapia e dá outras providências.** Brasília, 2011a.

_____. Ministério do Trabalho e Emprego. Segurança e Saúde no Trabalho. Norma Regulamentadora 32 - NR 32. **Estabelece as diretrizes básicas para a implementação de medidas de proteção à segurança e à saúde dos trabalhadores dos serviços de saúde, bem como daqueles que exercem atividades de promoção e assistência à saúde em geral.** Brasília, 2011b.

_____. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.201. **Estabelece as Diretrizes Nacionais para Biorrepositório e Biobanco de Material Biológico Humano com Finalidade de Pesquisa.** Brasília, 2011c.

BURTIS, Carl A.; BRUNS, David E. Tietz: Fundamentos de Química Clínica e Diagnóstico Molecular. Tradução de Francisco Sandro Menezes Rodrigues. 7ª ed. Elsevier. Rio de Janeiro, 2016.

CÉSAR, da S.J. Biologia. 8ª Ed., volume 1. São Paulo: Saraiva, 2005.

CHARDE, M.S. Review: The procurement, storage and quality assurance of frozen blood and tissue biospecimens. *International Journal of Pharmacological Research*, India, v. 4, n.2, 2014.

CIPRIANO, V. T. F e FREITAS, G. da C. O impacto da criopreservação na qualidade seminal. Sociedade Brasileira de Reprodução Humana, Elsevier, v. 3, n. 28, p. 112-116, 2013.

CLSI/ NCCLS. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard - Fifth Edition. CLSI/NCCLS document H3-A5 Vol.23 N°32 (Replaces H3-A4 Vol.18 N° 7). Wayne, PA USA: NCCLS, 2003.

CLSI/ NCCLS. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline-Third Edition. CLSI/NCCLS document H18-A3 Vol.24 N°38 (Replaces H18-A2 Vol.19 N° 21). Wayne, PA USA: NCCLS, 2004.

DUARTE, Renato Lima. Procedimento Operacional Padrão - A Importância de se padronizar tarefas nas BPLC. Curso de BPLC, Rio Branco – AC, 2005.

GÜTTLER, M. C. S. Relatório Final de Estágio Supervisionado do Mestrado Profissional em Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, 29 p. Trabalho não publicado.

ISBER/International Society for Biological and Environmental Repositories. Best Practices for Repositories: *Collection, Storage, Retrieval and Distribution of Biological Materials for Research*. ISBER HEAD OFFICE. Suite 400-570, West 7th Avenue Vancouver BC V5Y 1B3. Canadá, 2012.

MARTINELLI, A.L.C. Icterícia. Jaundice. *Revista Medicina*, Ribeirão Preto, 37: 246-252, Jul. / Dez. 2004.

OMS. Organização Mundial da Saúde / Organização Pan-Americana da Saúde. Boas Práticas Clínicas: Documentos das Américas. IV Conferência Pan-Americana Para Harmonização da Regulamentação Farmacêutica. República Dominicana, 2005.

PEINADO, Jurandir; GRAEML, Alexandre Reis. Administração da Produção: Operações Industriais e de Serviços. Curitiba: UnicenP, 2007.

RIEGMAN, P.H.J. et al. Biobanking for better Healthcare. *Molecular Oncology*, v. 2, Canadá, july, p. 213–222, 2008.

SBPC/ML. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial: Coleta de Sangue Venoso*. 2ª ed. Barueri, SP: Minha Editora, 2010.

SBPC/ML. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial: Coleta e Preparo da Amostra Biológica*. – Barueri, SP: Minha Editora, 2014.

WERNECK, Marcos Azeredo Furkim; FARIA, Horácio Pereira de; CAMPOS, Kátia Ferreira Costa. *Protocolo de cuidados à saúde e de organização do serviço*. Belo Horizonte: Coopmed, 2009.

WHO-IARC. World Health Organization / International Agency for Research on Cancer. *Common minimum technical standards and protocols for biological resource centres dedicated to cancer research*. Lyon: WHO; 2007.

WHO-IARC. *Common minimum technical standards and protocols for biobanks dedicated to cancer research*. Lyon: WHO; nº 44, 2017.

APÊNDICES

**APÊNDICE A - PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO GERAL PARA
COLETA DE SANGUE NOS SETORES DE PESQUISAS DO HU-UFMA.**

HISTÓRICO DE REVISÕES

Data	Versão	Descrição	Gestor do POP	Autor/responsável por alterações

SUMÁRIO

OBJETIVOS.....	164
DOCUMENTOS RELACIONADOS	164
GLOSSÁRIO.....	164
APLICAÇÃO	164
LISTA DE FIGURA.....	165
LISTA DE QUADROS	165
I. INFORMAÇÕES GERAIS	165
II. DESCRIÇÃO DAS TAREFAS.....	165
III. MAPEAMENTO	169
REFERENCIAIS TEÓRICOS	169

OBJETIVOS

- Padronizar o procedimento de coleta de sangue venoso, para que seja seguido pelos setores de pesquisas do HUUFMA, visando garantir que as etapas inerentes à coleta de sangue dos participantes da pesquisa sejam cumpridas de forma segura e eficiente, de modo a obter resultados analíticos de alta qualidade;
- Garantir que as informações referentes ao Participante da Pesquisa, à coleta e material coletado, sejam registradas de forma fidedigna e seguras, respeitando o princípio da confidencialidade e rastreabilidade.

DOCUMENTOS RELACIONADOS

- Formulário de Registro de Coleta de Sangue;
- Sistema de Cadastro do Participante de Pesquisa.

GLOSSÁRIO

- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CEPEC – Centro de Pesquisa Clínica
- CPDR – Centro de Prevenção de Doenças Renais
- HUUFMA – Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
- ID – Identificador Único
- LEGH – Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade
- POP – Procedimento Operacional Padrão
- TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

APLICAÇÃO

O POP será aplicado nos seguintes Setores de pesquisas do HU-UFMA:

- CEPEC
- LEGH
- CPDR

LISTA DE FIGURA

Não se aplica

LISTA DE QUADROS

Não se aplica

I. INFORMAÇÕES GERAIS

O POP aplica-se à:

- Pesquisadores dos grupos de pesquisas dos Setores de Pesquisa do HUUFMA, treinados para aplicar o TCLE com os participantes de pesquisas;
- Pesquisadores dos grupos de pesquisas e/ou funcionários, presentes nos Setores de Pesquisa do HUUFMA, qualificados para realizar coleta de sangue venoso dos participantes da pesquisa que, em um momento anterior, deu o consentimento através do TCLE;
- Pesquisadores dos grupos de pesquisas e/ou funcionários, presentes nos Setores de Pesquisa do HUUFMA, treinados para cadastrar as informações referentes à amostra coletada e ao participante da pesquisa e suas informações associadas que, em um momento anterior, deu o consentimento através do TCLE.

II. DESCRIÇÃO DAS TAREFAS

- Conversar previamente com o participante, em local reservado, convidando-o a fazer parte da pesquisa;
- Obter, de antemão, o consentimento do participante por meio de sua assinatura do TCLE;
- Realizar o cadastro do Participante da Pesquisa no momento em que ele consentir participar da pesquisa para a qual foi convidado (a), através do TLCE (APÊNDICE J);
- Gerar, através do cadastro, um código de identificação (ID) do participante, que é único para cada sujeito (APÊNDICE J).

Preparar o Participante da Pesquisa:

- Transmitir instruções escritas para o participante da pesquisa, previamente e quando adequado, sobre as condições requeridas para a realização do exame, informando-o, sobre a necessidade de interrupção do uso de alguma medicação, dieta específica, mudanças na prática de alguma atividade física, necessidade de estar em jejum ou horário máximo permitido para a última refeição antes da realização da coleta.

Definir o Horário de Coleta:

- Respeitar a orientação constante na solicitação do exame, para o período de jejum, evitando períodos muito prolongados, acima de 16 horas;
- Realizar a coleta em um horário alternativo, apropriado para o estudo de pesquisa, caso não seja necessário estar em jejum;
- Realizar a coleta, sempre que possível, de forma conjunta com os procedimentos necessários para diagnóstico e tratamento.
- Organizar o Ambiente para o Procedimento de Coleta:
- Conferir e ordenar todo o material a ser utilizado na coleta: impressora de rótulo; tubos de coleta; seringa; agulhas de calibre apropriado; adaptador de agulha para coleta de sangue a vácuo; álcool isopropílico 70%; gaze; curativo/esparadrapo; luvas (sem látex é a mais recomendada); garrote, rack; recipiente para materiais perfuro-cortantes; e Formulário de Registro de Coleta de Sangue (APÊNDICE J);
- Apresentar-se ao participante da pesquisa de forma cortês, profissional e sensível às suas necessidades, estabelecendo comunicação e respeitando a confidencialidade do participante;
- Solicitar documento de identificação do Participante de Pesquisa;
- Verificar se o consentimento informado foi obtido através do TCLE;
- Verificar se as condições de preparo e o jejum do paciente estão adequados;
- Imprimir a (s) etiqueta (s) gerada (s) através do Cadastro do Participante e identificar os tubos na frente do indivíduo e garantir que as informações nos rótulos dos tubos de coleta de sangue correspondam às informações do participante. A coleta de sangue deve ser em tubos apropriados, pré-definidos de acordo com o objetivo da pesquisa.

Procedimento de Coleta de Sangue Venoso Utilizando Tubo à Vácuo

1. Abrir o lacre da agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo em frente ao paciente;
2. Rosquear a agulha no adaptador do sistema a vácuo;

3. Higienizar as mãos com água e sabão ou com álcool isopropílico a 70% (consultar a Figura 7 deste Manual);

OBS.: a fricção com álcool reduz em 1/3 o tempo despendido pelos profissionais de saúde para a higiene das mãos.

4. Calçar as luvas;

5. Posicionar o Participante. O Participante deve sentar-se em uma cadeira, deitar-se ou sentar-se na cama. Estender o braço do Participante, inclinándolo para baixo na altura do ombro;

6. Aplicar o torniquete para expor as veias. Pedir ao participante que feche a mão para evidenciar a veia. Após a localização da veia, afrouxar o torniquete e esperar 02 minutos para utilizá-lo novamente;

Obs.: Não bater na veia com os dois dedos, pois esse tipo de procedimento provoca hemólise capilar; e, portanto, altera o resultado de certos analitos.

7. Selecionar o local apropriado para a punção venosa. Evitar áreas com cicatrizes excessivas ou hematomas;

Obs.: Embora as veias da mão e do punho sejam aceitáveis, é ideal selecionar uma veia da fossa antecubital.

8. Fazer a antissepsia do local da venopunção. Utilizar uma gaze umedecida com álcool isopropílico 70% ou álcool etílico fazendo um movimento circular do centro para fora;

9. Permitir a secagem da área por 30 segundos para prevenir hemólise da amostra e reduzir a sensação de ardência na venopunção;

Obs.: Não se deve assoprar, abanar e tocar no local após a antissepsia.

10. Garrotear o braço do participante sem apertar muito, pois o fluxo arterial não deve ser interrompido;

OBS.: O torniquete deve ser posicionado de 7,5 a 10,0 cm acima do local da punção e com o laço para cima, a fim de evitar a contaminação da área de punção.

11. Fazer a punção numa angulação oblíqua de 30° em relação à superfície do braço, com o bisel da agulha voltado para cima;

12. Inserir o primeiro tubo a vácuo, seguindo a sequencia correta;

13. Quando o sangue começar a fluir para dentro do tubo, desgarratear o braço do indivíduo e pedir para que abra a mão;

14. Realizar a troca dos tubos sucessivamente, seguindo a ordem correta (consultar Quadro 1 deste Manual);

15. Homogeneizar imediatamente após a retirada de cada tubo, invertendo-o suavemente de 5 a 10 vezes, conforme orientações do fabricante dos tubos (consultar Figura 9 e Quadro 4 deste Manual);
16. Remover a agulha após a retirada do último tubo;
17. Fazer a compressão no local da punção, em geral, de 1 a 2 minutos com algodão ou gaze seca para evitar a formação de hematomas e sangramentos;
18. Descartar a agulha em recipiente para materiais perfurocortantes;
19. Fazer curativo oclusivo no local;
20. Orientar o paciente a não dobrar o braço, não carregar peso ou bolsa a tiracolo no mesmo lado da punção por, no mínimo, 1 hora, e não manter a manga dobrada, pois pode funcionar como torniquete;
21. Verificar se há alguma pendência, fornecendo orientações adicionais ao paciente, se for necessário;
22. Preencher o Formulário de Registro Coleta de Sangue (APÊNDICE E);
23. Colocar as amostras em local adequado ou encaminhá-las imediatamente ao processamento.

OBS.: Caso o material coletado necessite ficar sempre refrigerado até o seu processamento, não deixar o sangue em contato direto com gelo, pois pode ocorrer hemólise da amostra.

Procedimento de Coleta de Sangue com Seringa e Agulha

1. Abrir a seringa na frente do paciente;
2. Higienizar as mãos;
3. Calçar as luvas;
4. Seguir os passos de “5” a “10” do item anterior;
5. Retirar a proteção da agulha hipodérmica;
6. Fazer a punção numa angulação oblíqua de 30° em relação à superfície do braço, com o bisel da agulha voltado para cima;
7. Desgarrotear o braço do indivíduo assim que o sangue começar a fluir dentro da seringa;
8. Aspirar devagar o volume necessário, de acordo com a quantidade de sangue requerida na etiqueta dos tubos a serem utilizados.

OBS.: Aspirar o sangue, evitando bolhas e espuma, com agilidade, pois o processo de coagulação do organismo do paciente já foi ativado no momento da punção.

9. Retirar a agulha da veia do paciente;
10. Fazer a compressão no local da punção, em geral, de 1 a 2 minutos com algodão ou gaze seca para evitar a formação de hematomas e sangramentos;

11. Descartar a agulha em recipiente adequado, sem a utilização das mãos (não desconectar a agulha e não reencapar). Caso esteja usando agulha com dispositivo de segurança, ativar o dispositivo e descartar a agulha no descartador para objetos perfurocortantes;
12. Após a coleta, utilizar um dispositivo de transferência de amostra;
13. Conectar o dispositivo de transferência na seringa, introduzir o tubo a vácuo e aguardar o sangue parar de fluir em direção ao interior do tubo. Realizar a troca de tubo sucessivamente de acordo com a ordem correta.
14. Homogeneizar imediatamente após a retirada de cada tubo, invertendo-o suavemente de 5 a 10 vezes, conforme orientações do fabricante dos tubos (consultar Figura 9 deste Manual);
15. Descartar o dispositivo de transferência de amostra e a seringa;
16. Fazer curativo oclusivo no local;
17. Seguir os passos de “19” a “23” do item anterior.

III MAPEAMENTO

Não se aplica

REFERENCIAIS TEÓRICOS

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI/ NCCLS). Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard - Fifth Edition. CLSI/NCCLS document H3-A5 Vol.23 N°32 (Replaces H3-A4 Vol.18 N° 7). Wayne, PA USA: NCCLS, 2003.

Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares/EBSERH – Coordenado pela Secretaria Geral. Manual de Padronização de POPs. Brasília: EBSERH, 2014, 16p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Coleta de Sangue Venoso. 2ª ed. Barueri, SP: Minha Editora, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Coleta e Preparo da Amostra Biológica. – Barueri, SP: Minha Editora, 2014.

**APÊNDICE B - PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO GERAL PARA
PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRA DE SANGUE**

HISTÓRICO DE REVISÕES

Data	Versão	Descrição	Gestor do POP	Autor/responsável por alterações

SUMÁRIO

OBJETIVOS.....	172
DOCUMENTOS RELACIONADOS	172
GLOSSÁRIO.....	172
APLICAÇÃO	173
LISTA DE FIGURA.....	173
LISTA DE QUADROS	173
I. INFORMAÇÕES GERAIS	173
II. DESCRIÇÃO DAS TAREFAS.....	173
III. MAPEAMENTO	177
REFERENCIAIS TEÓRICOS	177

OBJETIVOS

- Padronizar o procedimento de processamento de sangue, para que seja seguido pelos setores de pesquisas do HUUFMA;
- Assegurar que o Soro, o Plasma e o Buffy-Coat (Glóbulos Brancos) sejam processados e separados, de forma segura e eficiente, de modo a obter resultados analíticos de alta qualidade nas pesquisas;
- Garantir que as informações referentes ao processamento e armazenamento de amostra, sejam registradas de forma fidedigna e seguras, respeitando o princípio da confidencialidade e rastreabilidade;
- Garantir que o material de pesquisa processado seja armazenado em recipiente e equipamento adequado, de acordo com as recomendações técnicas; e posicionado em localização exata na caixa, estante e equipamento, conforme pré-estabelecido pelo técnico responsável.

DOCUMENTOS RELACIONADOS

- Formulário de Registro de Processamento e Armazenamento de Sangue;
- Sistema de Cadastro de amostra biológica.
- .

GLOSSÁRIO

- CEPEC – Centro de Pesquisa Clínica
- CPDR – Centro de Prevenção de Doenças Renais
- EPI – Equipamento de Proteção Individual
- HUUFMA – Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
- ID – Identificador Único
- LEGH – Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade
- POP – Procedimento Operacional Padrão
- *R* – Raio
- RCF – Força Centrífuga Relativa
- RPM – Velocidade de rotação do motor em rotação por minuto

APLICAÇÃO

O POP será aplicado nos seguintes Setores de pesquisas do HU-UFMA:

- CEPEC
- LEGH
- CPDR

LISTA DE FIGURA

Não se aplica

LISTA DE QUADROS

Não se aplica

I. INFORMAÇÕES GERAIS

- O POP aplica-se aos pesquisadores dos grupos de pesquisas e/ou funcionários, presentes nos Setores de Pesquisa do HUUFMA, qualificados para realizar o processamento das amostras de sangue venoso coletados dos participantes da pesquisa, e treinados para anotar as informações referentes à etapa de processamento das amostras.

II. DESCRIÇÃO DAS TAREFAS

1. Realizar o cadastro da amostra no Sistema de Cadastro de Amostra (APÊNDICE K);
2. Gerar, através do cadastro, um código de identificação (ID) da amostra, que é único para cada amostra, de modo que esteja associado ao ID constante no tubo (APÊNDICE K).
3. Organizar o Ambiente Para o Processamento das Amostras: colocar os EPI's (touca, máscara, propé, luvas, avental e óculos); conferir e ordenar todo o material a ser utilizado no processamento de amostras (tubo de coleta contendo a amostra, criotubo, tubo de transferência, etiqueta, centrífuga, micropipeta, ponteira de pipeta, caixa para armazenamento de criotubo, rack, papel toalha, álcool isopropílico a 70% pipeta pasteur, descartex, e Formulário de Registro de Processamento e Armazenamento de Sangue (APÊNDICE F); limpar a bancada com papel toalha umedecido com álcool isopropílico a 70%.

Processamento de Sangue para Obtenção de Plasma e Buffy-Coat

OBS.: O tempo decorrido entre a coleta e o processamento da amostra depende do uso pretendido na Pesquisa. Portanto, deve-se respeitar o tempo pré-estabelecido pelo estudo, observar o horário que foi realizado a coleta e registrar as informações referentes aos horários durante a etapa de processamento da amostra.

4. Colocar os tubos de coleta contendo as amostras na centrífuga. Utilizar sempre caçambas ou cubetas apropriadas nas centrífugas, de tamanho específico para os tubos usados, certificar-se de que os tubos estejam corretamente encaixados na caçamba da centrífuga e balancear os tubos para minimizar o risco de quebra;

OBS.: Os tubos devem ser agrupados de acordo com o tipo, por exemplo: tubos com o mesmo volume de aspiração, tubos de tamanhos iguais, tubos de vidro com tubos de vidro, tubos com o mesmo tipo de tampa ou rolha de proteção, e tubos de plástico com tubos de plástico. Para centrifugação de tubos de coleta a vácuo, é mais recomendado o uso de centrífugas de ângulo móvel (tipo *swing-bucket*), não refrigeradas, do que centrífugas de ângulo fixo, pois as barreiras obterão maior estabilidade.

5. Registrar no Formulário de Registro de Processamento e Armazenamento de Sangue data e hora do início do processamento da amostra (APÊNDICE F);

6. Centrifugar o sangue total por 20 a 30 minutos a 1500RPM (consultar o Quadro 8 deste Manual);

OBS.: Os tubos não devem passar por um segundo processo de centrifugação após a formação da barreira. Sangue Total é o sangue coletado em tubo com anticoagulante, sem ter passado pelo processo de centrifugação.

7. Aguardar até que a centrífuga pare completamente e, em seguida, retire os tubos, avalie o aspecto final da amostra para verificar a presença de hemólise e disponha o tubo verticalmente em uma rack em cima da bancada;

8. Imprimir a (s) etiqueta (s) gerada (s) através do Cadastro da Amostra e Informações Associadas e etiquetar os criotubos que irão receber as alíquotas de plasma e de buffy-coat a partir do Sangue Total centrifugado. Cada uma das alíquotas obtidas a partir da amostra deve receber a mesma identificação. A quantidade de alíquotas, bem como o seu volume é pré-estabelecido pelo método do estudo;

9. Verificar se a ID constante nos criotubos correspondem ou estejam associadas (através de políticas de identificação de amostra da instituição) à ID presente no tubo de coleta;

10. Dispor os tubos criogênicos etiquetados na rack juntamente com os tubos de sangue centrifugados;

OBS.: Após a centrifugação dos tubos, a amostra sanguínea se divide em três fases: a camada superior é o plasma, de cor amarelo claro; a segunda camada é uma estreita faixa de interface esbranquiçada que representa o "buffy coat" ou fração de leucócitos (camada leucoplaquetária); e no fundo está a terceira camada, de cor vermelha escura e consiste dos eritrócitos ou glóbulos vermelhos.

11. Colocar na rack dois tubos secundários, descartáveis, livres de qualquer substância.

Obtenção de Plasma

1. Introduzir a ponteira na amostra até aproximadamente 01 mm da camada leucoplaquetária usando uma pipeta de transferência apropriada com ponteira descartável, e aspirar a camada de plasma. Tome cuidado para não tocar a ponta da ponteira na camada leucoplaquetária;
2. Dispensar todo o plasma coletado na ponteira em um tubo secundário descartável, livre de qualquer substância;
3. Aliquotar o plasma obtido, transferindo as alíquotas para os criotubos etiquetados, e reservados para acondicionar plasma. Cada uma das alíquotas obtidas a partir da amostra deve receber a mesma identificação.

Obtenção de Buffy-Coat

Após a retirada da camada de plasma, proceder com a obtenção do Buffy-Coat:

1. Introduzir a ponteira na estreita faixa de interface esbranquiçada da amostra usando uma pipeta de transferência apropriada com ponteira descartável, e aspirar a camada de leucócitos, em um volume de mais ou menos 0,5 mL;
2. Desprezar toda a camada leucoplaquetária da ponteira em um criotubo etiquetado, e reservado para armazenagem do Buffy-Coat;
3. Homogeneizar a porção obtida no criotubo, aspirar a metade do volume e desprezar em outro criotubo etiquetado, formando duas alíquotas de Buffy-Coat. Cada uma das alíquotas obtidas a partir da amostra deve receber a mesma identificação;
4. Colocar os recipientes contendo o Plasma e o Buffy-Coat em caixas para armazenagem de criotubo, em posições pré-definidas pelo Setor, e armazenar em freezer - 20°C por até 30 dias ou em freezer -80°C, se por um longo período, em posição e localização pré-estabelecidas;
5. Anotar a temperatura do equipamento de armazenagem, no momento do armazenagem;

6. Registrar as informações referentes ao processamento e armazenamento do plasma e Buffy-Coat no Formulário de Registro de Processamento e Armazenamento de Sangue (APÊNDICE F).

Processamento de Sangue Para Obtenção de Soro

1. Registrar no Formulário de Registro de Processamento e Armazenamento de Sangue data e hora do recebimento da amostra (APÊNDICE F);
2. Verificar se o tempo decorrido a partir da coleta foi suficiente para a completa retração do coágulo (consultar o Quadro 7 deste Manual);
3. Colocar os tubos de coleta contendo as amostras na Centrífuga. Utilizar sempre caçambas ou cubetas apropriadas nas centrífugas, de tamanho específico para os tubos usados. Certificar-se de que os tubos estejam corretamente encaixados na caçamba da centrífuga e balancear os tubos para minimizar o risco de quebra;

OBS.: Os tubos devem ser agrupados de acordo com o tipo, por exemplo: tubos com o mesmo volume de aspiração, tubos de tamanhos iguais, tubos de vidro com tubos de vidro, tubos com o mesmo tipo de tampa ou rolha de proteção, e tubos de plástico com tubos de plástico. Para centrifugação de tubos de coleta a vácuo, é mais recomendado o uso de centrífugas de ângulo móvel (tipo *swing-bucket*), não refrigeradas, do que centrífugas de ângulo fixo, pois as barreiras obterão maior estabilidade.

4. Centrifugar a amostra, observando sempre Velocidade de Rotação do Motor Por Minuto (RPM) e o tempo utilizados na centrifugação da amostra adequados (consultar o Quadro 8 deste Manual);

OBS.: Os tubos não devem passar por um segundo processo de centrifugação após a formação da barreira; no caso de estarem utilizando tubos com gel separador, estes não podem ser centrifugados em baixas temperaturas, pois a formação da barreira de gel pode ser comprometida caso o tubo seja resfriado antes ou durante a centrifugação. O ideal é ajustar a temperatura da centrífuga para 25°C.

5. Aguardar até que a centrífuga pare completamente e, em seguida, retire os tubos; avaliar o aspecto final da amostra para verificar a presença de hemólise, fibrina ou lipemia;

OBS.: Não usar o freio da centrífuga com o intuito de interromper a centrifugação dos tubos, essa brusca interrupção, além de hemólise, pode deslocar o gel separador.

6. Imprimir a (s) etiqueta (s) gerada (s) através do Cadastro de Amostra e identificar os criotubos que irão receber as alíquotas de Soro a partir do Sangue centrifugado. A quantidade de alíquotas, bem como o seu volume é pré-estabelecido pelo método do estudo;

7. Verificar se a ID constante nos criotubos correspondem ou estejam associadas (através de políticas de identificação de amostra da instituição) a ID presente no tubo de coleta;
8. Dispor os tubos criogênicos etiquetados na rack juntamente com os tubos de sangue centrifugados;
9. Colocar na rack um tubo secundário, descartável, livre de qualquer substância;
10. Introduzir a ponteira na camada de Soro (sobrenadante de cor transparente) usando uma pipeta de transferência apropriada com ponteira descartável, e aspirar todo o Soro;
11. Desprezar o Soro da ponteira em um tubo secundário descartável;
12. Aliquotar o Soro obtido, transferindo as alíquotas para os criotubos etiquetados, e reservados para acondicionar Soro;
13. Colocar os recipientes contendo o Soro em uma caixa para armazenamento de criotubo, em posição pré-definida pelo Setor, e armazenar em freezer -20°C por até 30 dias ou em freezer -80°C, se por um longo período, em posição e localização pré-estabelecidas;
14. Anotar a temperatura do equipamento de armazenagem, no momento do armazenamento;
15. Registrar as informações referentes ao processamento e armazenamento do Soro no Formulário de Registro de Processamento e Armazenamento de Sangue (APÊNDICE F).

III. MAPEAMENTO

Não se aplica

REFERENCIAIS TEÓRICOS

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI/ NCCLS). Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard - Fifth Edition. CLSI/NCCLS document H3-A5 Vol.23 N°32 (Replaces H3-A4 Vol.18 N° 7). Wayne, PA USA: NCCLS, 2003.

Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares/EBSERH – Coordenado pela Secretaria Geral. Manual de Padronização de POPs. Brasília: EBSERH, 2014, 16p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Coleta de Sangue Venoso. 2ª ed. Barueri, SP: Minha Editora, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Coleta e Preparo da Amostra Biológica. – Barueri, SP: Minha Editora, 2014.

**APÊNDICE C - PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO COM INSTRUÇÕES
GERAIS PARA EXTRAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS:
DNA E RNA**

HISTÓRICO DE REVISÕES

Data	Versão	Descrição	Gestor do POP	Autor/responsável por alterações

SUMÁRIO

OBJETIVOS.....	180
DOCUMENTOS RELACIONADOS	180
GLOSSÁRIO.....	180
APLICAÇÃO	181
LISTA DE FIGURA.....	181
LISTA DE QUADROS	181
I. INFORMAÇÕES GERAIS	181
II. DESCRIÇÃO DAS TAREFAS.....	182
III. MAPEAMENTO	184
REFERENCIAIS TEÓRICOS	184

OBJETIVOS

- Definir instruções gerais a serem seguidas pelos setores de pesquisas do HUUFMA para o procedimento de extração e armazenamento das moléculas DNA e RNA a partir de amostras de sangue, de modo que as moléculas obtidas sejam livres de contaminação, não venham a se degradar e preservem a sua integridade;
- Garantir que as informações referentes à extração, quantificação e armazenamento de amostras de DNA e RNA sejam registradas de forma fidedigna e seguras, respeitando o princípio da confidencialidade e rastreabilidade;
- Garantir que os produtos obtidos para pesquisa sejam armazenados em recipientes e equipamentos adequados e temperaturas ideais, de acordo com as recomendações técnicas; e posicionados em localizações exatas nas caixas de armazenamento, estantes e equipamentos, conforme pré-estabelecido pelo técnico responsável.

DOCUMENTOS RELACIONADOS

- Formulário de Registro de Extração e Armazenamento de Ácidos Nucléicos: DNA E RNA;
- Sistema de Cadastro da Pesquisa;
-

GLOSSÁRIO

- CEPEC – Centro de Pesquisa Clínica
- CPDR – Centro de Prevenção de Doenças Renais
- DNA – Ácido Desoxirribonucléico
- EPI – Equipamento de Proteção Individual
- HUUFMA – Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
- ID – Identificador Único
- LEGH – Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade
- MS – Ministério da Saúde
- POP – Procedimento Operacional Padrão
- RNA – Ácido Ribonucléico

APLICAÇÃO

O POP será aplicado nos seguintes Setores de pesquisas do HU-UFMA:

- CEPEC
- LEGH
- CPDR

LISTA DE FIGURA

Não se aplica

LISTA DE QUADROS

Não se aplica

I. INFORMAÇÕES GERAIS

- O POP aplica-se aos pesquisadores dos grupos de pesquisas e/ou funcionários, presentes nos Setores de Pesquisa do HUUFMA, qualificados para realizar os procedimentos de extração e armazenamento de DNA e RNA obtidos de amostras de sangue coletadas dos participantes da pesquisa que, em um momento anterior, deu o consentimento através do TCLE;
- Pesquisadores dos grupos de pesquisas e/ou funcionários, presentes nos Setores de Pesquisa do HUUFMA, treinados para anotar as informações referentes à extração e armazenamento de DNA e RNA, obtidos de amostras de sangue coletadas dos participantes da pesquisa que, em um momento anterior, deu o consentimento através do TCLE.
- Este POP limita-se a disponibilizar instruções gerais a serem seguidas durante os procedimentos de extração e armazenamento de DNA e RNA e garantir que as informações relevantes para a pesquisa referentes a estas etapas sejam registradas, tendo em vista que estas moléculas são derivadas complexos obtidos a partir de células sanguíneas e vários kits comerciais (com métodos e marcas diferentes) estão disponíveis no mercado para serem utilizados. A escolha do método para extração de ácidos nucleicos é sensível, principalmente, aos recursos financeiros e equipamentos

disponíveis nos laboratórios. Como os diferentes métodos de extração, a proficiência técnica e manipulações extensas de amostras podem introduzir variáveis pré-analíticas, buscou-se com este POP disponibilizar instruções gerais para que os Procedimentos de extração de DNA e RNA tenham o máximo de consistência, de modo a obter resultados de testes comparáveis nas pesquisas.

II. DESCRIÇÃO DAS TAREFAS

- Realizar o cadastro da amostra de DNA e RNA no Cadastro de Registro de Amostra;
- Gerar, através do cadastro, o código de identificação (ID) da amostra, que é único para cada amostra, de modo que esteja associado ao ID do Participante.

Arrumar o ambiente

- a) Colocar os EPI's: touca; máscara; luvas; avental e óculos;
- b) Limpar a bancada com papel toalha umedecido com álcool isopropílico a 70%;
- c) Conferir e ordenar todo o material a ser utilizado na extração de DNA;
- d) Imprimir a (s) etiqueta (s) gerada (s) através do Cadastro de Amostra e identificar e colocar em ordem todos os tubos eppendorfs, criotubos ou sílica a serem utilizados na extração, para minimizar o potencial erro de troca de amostras;

DNA extraído com Buffy-Coat

- e) Descongelar o Buffy-Coat (previamente processado a partir do sangue total, seguindo POP específico da instituição) por agitação suave em banho-maria a 37° C;

NOTA: Todo sangue deve ser tratado como potencialmente infeccioso.

- f) Manter o tubo contendo Buffy-Coat descongelado suspenso no gelo, até iniciar o procedimento de extração;

DNA extraído com sangue total

Extrair o DNA

1. Reservar o tubo contendo sangue total em um recipiente contendo gelo;
2. Extrair o DNA seguindo o procedimento detalhado descrito no manual do kit comercial apropriado;
3. Etiquetar os tubos criogênicos para reservar as alíquotas de DNA extraído, tantas quantas forem necessárias, pois a molécula de DNA pode se fragmentar com repetidos ciclos de congelamento/descongelamento. Conferir se a ID presente na etiqueta do tubo criogênico corresponde a ID presente nos tubos contendo as alíquotas de sangue no início do

procedimento. Cada uma das alíquotas obtidas a partir da amostra deve receber a mesma identificação;

4. Aliquotar o DNA para armazenamento;
5. Reservar uma pequena alíquota de DNA para quantificação;
6. Colocar os recipientes contendo o DNA extraído em caixas para armazenamento de criotubo, em posições pré-definidas pelo Setor, e armazenar em freezer -80°C , em posição e localização pré-estabelecida;
7. Anotar a temperatura do equipamento de armazenagem, no momento do armazenamento;
8. Quantificar o DNA por espectrofotometria seguindo POP específico da instituição;
9. Registrar a concentração (em $\text{ng}/\mu\text{L}$) e pureza (razão de absorbâncias a 260/280 nm) do DNA;
10. Registrar todas as informações referentes à extração, quantificação e armazenamento de DNA no Formulário de Extração e Armazenamento de Ácidos Nucléicos: DNA e RNA (APÊNDICE G).

Extração de RNA

Colocar os EPI's: touca; máscara; luvas; avental e óculos;

Limpar a bancada com papel toalha umedecido com álcool isopropílico a 70% e, se possível, limpar com um inibidor de RNase;

Usar ponteiras com filtro durante o procedimento;

NOTA: Não tocar na coluna dos tubos com a ponta da pipeta, manter os tubos fechados sempre que possível, abrindo um de cada vez, e trocar as luvas com frequência para evitar introduzir RNase na amostra, bem como a contaminação cruzada das amostras durante ou após o procedimento.

Conferir e ordenar todo o material a ser utilizado na extração de RNA;

Imprimir a (s) etiqueta (s) gerada (s) através do Cadastro de Amostra e identificar e colocar em ordem todos os tubos eppendorfs, criotubos ou sílica a serem utilizados na extração, para minimizar o potencial erro de troca de amostras;

Separar a amostra de sangue total para extração do RNA;

NOTA: O sangue total coletado para análise de RNA deve ser refrigerado entre 2 e 8°C antes da extração de RNA, não podendo ultrapassar 4 horas. O ideal é que o sangue a ser utilizado para análise de RNA seja coletado em tubo contendo aditivo estabilizador de RNA. O armazenamento de sangue total não estabilizado não é recomendado para análise de transcrição gênica, devido à indução gênica de artefatos e à degradação do RNA. Todo sangue deve ser tratado como potencialmente infeccioso.

Extrair o RNA seguindo o procedimento detalhado descrito no manual do kit comercial apropriado

- 1) Colocar o tubo com RNA extraído ressuspensão em gelo;
- 2) Etiquetar os tubos criogênicos para reservar as alíquotas de RNA, tantas quantas forem necessárias, pois a molécula de RNA pode se fragmentar com repetidos ciclos de congelamento/descongelamento. Conferir se a ID presente na etiqueta do tubo criogênico corresponde a ID presente nos tubos contendo as alíquotas de sangue no início do procedimento. Cada uma das alíquotas obtidas a partir da amostra deve receber a mesma identificação;
- 3) Aliquotar o RNA para armazenamento;
- 4) Reservar uma pequena alíquota para quantificar o RNA por espectrofotometria seguindo POP específico da instituição;
- 5) Colocar os recipientes contendo o RNA extraído em caixas para armazenamento de criotubo, em posições pré-definidas pelo Setor, e armazenar em freezer -80°C, em posição e localização pré-estabelecida;
- 6) Anotar a temperatura do equipamento de armazenagem, no momento do armazenamento;
- 7) Quantificar o RNA por espectrofotometria seguindo POP específico da instituição;
- 8) Registrar a concentração (em ng/μL) e pureza (razão de absorbâncias a 260/280 nm) do RNA;
- 9) Registrar todas as informações referentes à extração, quantificação e armazenamento de RNA no Formulário de Registro de Extração e Armazenamento de Ácidos Nucléicos: DNA e RNA (APÊNDICE G).

III. MAPEAMENTO

Não se aplica

REFERENCIAIS TEÓRICOS

Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares/EBSERH – Coordenado pela Secretaria Geral. Manual de Padronização de POPs. Brasília: EBSEH, 2014, 16p.
Protocolos e métodos de análise em laboratórios de biotecnologia agroalimentar e de saúde humana / Raul Antonio Sperotto (Org.) - Lajeado: Editora da Univates, 2014.
Rede Canadense de Repositórios de Tecidos (Em inglês: *Canadian Tissue Repository Network*, disponível em: <https://www.ctrnet.ca/>).

**APÊNDICE D – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLETA,
PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE TECIDO OBTIDO A PARTIR DE
PEÇA CIRÚGICA E DE BIÓPSIA PARA UTILIZAÇÃO EM PESQUISAS DO
HUUFMA.**

HISTÓRICO DE REVISÕES

Data	Versão	Descrição	Gestor do POP	Autor/responsável por alterações

SUMÁRIO

OBJETIVOS.....	187
DOCUMENTOS RELACIONADOS	187
GLOSSÁRIO.....	187
APLICAÇÃO	187
LISTA DE FIGURA.....	188
LISTA DE QUADROS	188
I. INFORMAÇÕES GERAIS	188
II. DESCRIÇÃO DAS TAREFAS.....	189
III. MAPEAMENTO	195
REFERENCIAIS TEÓRICOS	196

OBJETIVOS

- Padronizar o procedimento de coleta de tecido, bem como o seu transporte, processamento e armazenamento em Biorrepositório, para ser seguido pelos Setores de Pesquisas do HUUFMA, visando garantir que tais etapas sejam cumpridas de forma segura e eficiente, de modo a obter resultados analíticos de alta qualidade.
- Garantir que as informações referentes ao Participante da Pesquisa, à coleta, transporte, processamento e armazenamento de amostra de tecido obtida, sejam registradas de forma fidedigna e seguras, respeitando o princípio da confidencialidade e rastreabilidade.

DOCUMENTOS RELACIONADOS

- Formulário de Registro de Coleta, Transporte, Processamento e Armazenamento de Amostra de Tecido;
- Sistema de Cadastro de amostra biológica.
- .

GLOSSÁRIO

- CEPEC – Centro de Pesquisa Clínica
- CPDR – Centro de Prevenção de Doenças Renais
- DNA – Ácido Desoxirribonucléico
- EPI – Equipamento de Proteção Individual
- HUUFMA – Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
- ID – Identificador Único
- LEGH – Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade
- POP – Procedimento Operacional Padrão
- RNA – Ácido Ribonucléico
- TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

APLICAÇÃO

O POP será aplicado nos seguintes Setores de pesquisas do HU-UFMA:

- CEPEC
- LEGH
- CPDR

LISTA DE FIGURA

Não se aplica

LISTA DE QUADROS

Não se aplica

I. INFORMAÇÕES GERAIS

O POP aplica-se aos:

- Pesquisadores dos grupos de pesquisas dos Setores de Pesquisa do HUUFMA, treinados para aplicar o TCLE com os participantes de pesquisas e sinalizar o profissional médico sobre a coleta de amostra para pesquisa;
- Profissional médico que realiza a coleta do tecido no momento da ressecção cirúrgica;
- Pesquisadores dos grupos de pesquisas e/ou funcionários da instituição, treinados para auxiliar o Patologista no momento da ressecção cirúrgica e para anotar as informações referentes à coleta de tecido;
- Pesquisadores dos grupos de pesquisas e/ou funcionários da instituição, treinados para transportar a amostra de tecido coletado da sala cirúrgica para o Laboratório e anotar informações referentes a esta etapa;
- Pesquisadores dos grupos de pesquisas e/ou funcionários dos Grupos de Pesquisas, treinados para processar e armazenar a amostra de tecido coletado e anotar informações referentes a estas etapas;
- Pesquisadores dos grupos de pesquisas e/ou funcionários, presentes nos Setores de Pesquisa do HUUFMA, treinados para cadastrar as informações referentes à amostra e ao Participante da Pesquisa que, em um momento anterior, deu o consentimento através do TCLE.

II. DESCRIÇÃO DAS TAREFAS

- Obter, previamente, o consentimento do participante através do TCLE em local reservado;
- Realizar o cadastro do Participante da Pesquisa no momento em que ele consentir participar da pesquisa para a qual foi convidado (a), através do TLCE (APÊNDICE J);
- Aplicar o questionário epidemiológico com o participant;
- Gerar, através do Sistema de cadastro de pesquisa, um código de identificação (ID) do participante, que é único para cada sujeito;
- Sinalizar o profissional médico para a coleta de amostra para pesquisa no momento da cirurgia ou no momento da coleta de material para biópsia;

NOTA: Retirar, primeiramente, o tecido destinado às necessidades clínicas e ao diagnóstico. Apenas se houver tecido excedente, este será destinado à pesquisa.

Coleta, Fixação e Transporte de Amostra de Tecido

NOTA: O material de tecido a ser coletado é proveniente de peça cirúrgica ou de biópsia para ser utilizado em estudos histopatológico e em biologia molecular.

1. Colocar os EPI's: touca; máscara; luvas; avental e óculos;
2. Preparar previamente o líquido fixador de acordo o objetivo do estudo e seguindo protocolo específico do Setor de Pesquisa;
3. Separar os materiais: recipiente com gelo; placa de petri; frascos de boca larga limpos e estéreis; pinça limpa; bisturi limpo; etiqueta; caneta marcador; Formalina Neutra Tampão 10%; e Formulário de Registro de Coleta, Transporte, Processamento e Armazenamento de Amostra de Tecido;
4. Pedir para o profissional notificar o momento da isquemia (quando os vasos sanguíneos foram clampeados) se o procedimento for cirurgia;
5. Retirar a peça (se for cirurgia) ou fragmento (se for biópsia);
6. Anotar o momento da retirada da peça cirúrgica, se o procedimento for cirurgia, ou o momento da retirada do fragmento, se o procedimento for uma biópsia (APÊNDICE H);
7. Retirar dois fragmentos do tecido doente e dois fragmentos do tecido doente para a pesquisa;
8. Utilizar lâminas e instrumentos limpos a cada nova coleta, bem como em diferentes áreas do mesmo espécime;

NOTA: O contato entre diferentes espécimes deve ser evitado no momento da coleta e o equipamento utilizado para aquisição deve ser limpo com hipoclorito e álcool após cada

aquisição ou utilizar equipamento descartável, substituindo-o após cada aquisição para que não ocorra contaminação de espécimes.

Transporte, Processamento e Armazenamento de Amostras para Fins Histopatológico

a) Congelamento rápido em equipamento mecânico:

Colocar a amostra para congelamento rápido em frasco limpo e estéril e acondicionar em recipiente com gelo de modo que a temperatura esteja entre 2 a 8°C, para transporte;

Separar dois fragmentos do tecido sadio e dois fragmentos do tecido doente; colocar em recipientes adequados para ultrabaixa temperatura;

Armazenar em freezer -80°C;

b) Amostra para fixação e inclusão em bloco de parafina:

1. Realizar a clivagem da amostra para fixação e inclusão em bloco de parafina, imediatamente após a retirada. O corte deve ser feito com firmeza e unidirecional, buscando-se obter o número de amostras necessárias. As fatias de amostras não devem exceder a 3mm de espessura (0.3 cm);

2. Colocar a amostra que será fixada para posterior inclusão do tecido em bloco de parafina em frasco limpo e estéril contendo um pouco do reagente fixador utilizado;

NOTA: O frasco deve ter uma base que permita a acomodação em rack, em posição vertical, com a tampa voltada para cima, além disso, caso a amostra seja fixada em reagente específico, o frasco deve conter boca larga, pois a amostra perde a elasticidade após a fixação; e deve ser grande o suficiente para acomodar a amostra e o volume de fixador. Se o fragmento for obtido de uma biópsia e for muito pequeno, orienta-se coloca-lo em papel filtro antes da sua introdução no frasco para facilitar a posterior visualização.

3. Fixar o tecido que será armazenado em bloco de parafina. Colocar o reagente fixador no frasco contendo a amostra, em um volume 10 vezes maior que o volume da amostra. Deve-se evitar que o espécime fique colado no recipiente.

NOTA: A escolha do fixador deve ser de acordo com o objetivo do estudo. Como regra geral, o fixador universal para biópsias e peças cirúrgicas é a Formalina Neutra Tampão 10%, é também o fixador recomendado para o uso de rotina. O tempo ótimo de fixação depende da espessura do material, e pode ser entre 6 a 24 horas. A velocidade de penetração da Formalina a 10% é de cerca de 1 mm/h.

4. Anotar a hora da imersão do tecido no fixador (APÊNDICE I).

5. Cadastrar a amostra no Cadastro de amostra e gerar um código de identificação (ID) da amostra, que é único para cada amostra (APÊNDICE K). Imprimir etiquetas com o ID gerado através do Cadastro de Amostra;
6. Etiquetar os frascos contendo espécime com reagente fixador e espécime para congelamento rápido. A etiqueta com a identificação da amostra deve ser colocada no corpo do frasco e nunca na tampa, para não correr o risco de ser destruída ao abrir o recipiente;
7. Vedar bem os frascos contendo as amostras;
8. Transportar os frascos contendo as amostras do local da cirurgia para a sala de processamento. Os frascos contendo as amostras para congelamento rápido devem ser acondicionados e transportados em recipiente com gelo de modo que a temperatura esteja entre 2 a 8°C.

NOTA: O tempo entre o momento da coleta do tecido e a fixação ou congelamento da amostra não deve transcorrer mais de 30 minutos.

9. Anotar o horário da chegada da amostra à sala de processamento (APÊNDICE H).

Processamento e Armazenamento do Tecido em Bloco de Parafina

NOTA: A seguir está o passo-a-passo para o processamento manual de tecido, porém este método pode ser feito de modo automático por um aparelho denominado de Processador Automático de Tecidos. Neste caso, os cassetes (cápsulas) contendo as amostras de tecidos são colocados em um cesto dentro do Processador, o qual é programado para trabalhar como desejado.

10. Organizar, antecipadamente, o ambiente para processamento do tecido coletado. Separar os seguintes materiais: pinça limpa; etiqueta apropriada; álcool etílico absoluto; xilol; parafina, cassete de processamento; molde de inclusão para cassete; Becker; estufa; substância adesivante; hipoclorito de sódio a 1%; sabão neutro 5%; micrótomo; e Formulário de Registro de Coleta, Transporte, Processamento e Congelamento de Tecido Obtido de Peça Cirúrgica Para Armazenamento em Biorrepositório do HUUFMA;
11. Cadastrar a amostra no Cadastro de amostra e gerar um código de identificação (ID) da amostra, que é único para cada amostra, de modo que esteja associado ao ID do participante (APÊNDICE K);
12. Imprimir etiquetas com o ID gerado através do Cadastro de Amostra em material apropriado para cassete de bloco de parafina;
13. Identificar todos os cassete e molde de parafina que serão utilizados. Cada amostra obtida da mesma fonte e que possui as mesmas características deve receber a mesma identificação;

14. Colocar os EPI's: touca; máscara; luvas; avental e óculos;
15. Diluir previamente o álcool para as proporções 70%, 80% e 90% e reservar a porção de álcool absoluto;
16. Retirar a amostra do fixador após o tempo estipulado para fixação e lavar em água corrente para retirar o excesso de fixador;
17. Desidratar o tecido mergulhando a amostra em álcool etílico em diversas etapas, cerca de 1 hora para cada etapa, em série crescente de concentração do álcool: 70%, 80%, 90% até o álcool absoluto (100%). O volume de álcool deve ser cerca de 10 vezes maior que o volume da peça;
18. Penetrar o tecido em xilol (diafanização) por duas vezes consecutivas;
19. Impregnar a amostra em parafina. Colocar o tecido em molde de parafina, e deixar em estufa por cerca de 1 hora em temperatura controlada (56°C) por duas vezes consecutivas;
NOTA: A parafina não pode exceder 5°C acima do seu ponto de fusão, a ponto de causar danos aos tecidos.
20. Colocar parafina líquida em um molde de inclusão e incluir o tecido no molde com parafina. Transferir rapidamente a amostra do último banho de parafina para o molde de inclusão utilizando pinça aquecida (sempre utilizar pinça aquecida), fazendo leve pressão para que o fragmento de tecido fique todo no mesmo plano e apoiado no fundo do molde. O tecido deve ocupar a parte central do molde; a face do tecido que se quer cortar deve estar voltada para baixo. Quando houver mais de um fragmento no mesmo cassete estes devem estar orientados na mesma direção, voltados para a mesma face do bloco. Fragmentos côncavos devem ser orientados de modo que a face de maior diâmetro fique voltada para o fundo do molde;
NOTA: Caso o Laboratório possua aparelho denominado “central de inclusão”, esta etapa deve ser feita na área quente para manipulação de fragmentos do aparelho.
21. Passar os moldes com as amostras para a placa fria caso esteja utilizando “central de inclusão”;
22. Colocar cada cassete previamente identificado, correspondente a cada amostra de tecido, sobre o molde de parafina;
23. Dispensar parafina fundida sobre o cassete até completar o molde de inclusão e deixar solidificar;
24. Desenformar os blocos de parafinas contendo as amostras de tecidos após eles se solidificarem por completo (após cerca de 5 minutos);
25. Limpar todas as lâminas que serão utilizadas para fixar o corte de tecido. Reservar uma solução de água e sabão neutro a 5% em um Becker e mergulhar as lâminas. Levar o Becker

contendo a solução e lâminas ao micro-ondas e deixar por 15 minutos em alta potência, em seguida banha-las em água corrente até sair todo e qualquer resíduo; colocar as lâminas para secagem em suporte apropriado; levar as lâminas à estufa e deixar por alguns minutos com temperatura em cerca 70°C para secagem. As lâminas também podem ser desinfetadas deixando-as em uma solução de hipoclorito de sódio a 1% por 24h, em seguida lavar com água e sabão e finalizar embebendo-as em álcool etílico;

26. Identificar as lâminas com etiquetas apropriadas, de acordo com a identificação constante nos blocos de parafina que serão cortados;

NOTA: Não utilizar lápis preto, pois este deixa fragmentos de grafite sobre a lâmina contaminando-as.

27. Adesivar as lâminas com adesivo apropriado;

NOTA: Alguns adesivos como a albumina de Mayer não são recomendados para imunohistoquímica e imunofluorescência. Sempre ler as informações do fabricante antes de escolher a substância adesivante. Para aderir os cortes, ler a orientação do fabricante contida nas substâncias adesivantes específicas.

28. Cortar as amostras emblocadas em parafina em aparelho denominado “micrótomo” seguindo as instruções do fabricante;

29. Colocar as fatias de corte obtidas em álcool à 30% com uma pinça, para facilitar sua distensão;

30. Colar, em seguida, os cortes presentes no álcool diretamente nas lâminas pré adesivadas e leva-las ao banho-maria por alguns minutos, aquecido entre 40 e 45°C;

31. Colocar as lâminas contendo os cortes de tecidos em suporte apropriado e leva-las à estufa e deixar por no mínimo 02 horas entre 40 e 45°C;

32. Cobrir os blocos de tecidos com parafina fundida para evitar o ressecamento dos mesmos;

33. Acondicionar as lâminas em caixa porta lâmina com dispositivo de separação interno e armazenar em armário para lâminas de microscópio, cuja localização e posições de gavetas e compartimentos foram pré-estabelecidas pelo Setor. O ambiente de armazenagem deve está refrigerado;

34. Armazenar os cassetes contendo os blocos de parafina que não foram cortados, em armário para bloco de parafinas, cuja localização e posições de gavetas e compartimentos foram pré-estabelecidas pelo Setor. O ambiente de armazenagem deve está refrigerado;

35. Registrar todas as informações referentes à coleta, fixação, processamento, microtomia e armazenamento das amostras de tecidos em lâminas e em blocos de parafina no Formulário

de Registro de Transporte, Processamento e Armazenamento de Amostra de Tecido (APÊNDICE I).

c) Congelação de Tecidos em Nitrogênio Líquido (NL₂) e Armazenagem em Ultrabaixa Temperatura

1. Organizar, antecipadamente. Separar os seguintes materiais: criotubo de 5ml; pinça limpa; etiqueta para ultrabaixa temperatura; solução crioprotetora; Frascos de boca larga e estéreis; Nitrogênio Líquido (NL₂); Isopentano 99% P.A.; papel laminado; Becker; estufa; substância adesivante; hipoclorito de sódio a 1%; sabão neutro 5%; micrótomo; e Formulário de Registro de Transporte, Processamento e Congelamento de Tecido Obtido de Peça Cirúrgica Para Armazenamento em Biorrepositório do HUUFMA;

2. Cadastrar a amostra no Cadastro de amostra e gerar um código de identificação (ID) da amostra, que é único para cada amostra, de modo que esteja associado ao ID do participante (APÊNDICE K);

3. Imprimir etiquetas com o ID gerado através do Cadastro de Amostra em etiquetas apropriadas para ultrabaixa temperatura e identificar todos os frascos que serão utilizados e recipientes nos quais serão armazenadas as amostras de tecidos. Cada amostra obtida da mesma fonte e que possui as mesmas características deve receber a mesma identificação;

4. Realizar a clivagem da amostra. O corte deve ser feito com firmeza e unidirecional, buscando-se obter o número de amostras necessárias. Os fragmentos de amostras não devem exceder a 3mm de espessura (0.3 cm);

5. Mergulhar as amostras clivadas em uma solução crioprotetora em frascos previamente identificados;

NOTA: Existem diversos crioprotetores comercialmente disponíveis. A escolha deve considerar o nível de interferência nos resultados das análises que se deseja obter. O OCT (optimum cutting temperature) é o agente mais comumente utilizado nos laboratórios de histologia na rotina.

6. Reservar Isopentano 99% P.A em um frasco limpo de boca larga, previamente identificado, e imergir o frasco contendo o Isopentano em Nitrogênio Líquido para resfriamento;

7. Com uma pinça, pegar a amostra embebida no agente crioprotetor e embalar em um papel laminado;

8. Colocar o tecido embalado em papel laminado no frasco contendo Isopentano, previamente resfriado no NL₂;

9. Resfriar a amostra a 170°C abaixo de zero, em Nitrogênio Líquido. Imergir o frasco com a solução de Isopentano, agora contendo o tecido em papel laminado, em NL₂;

NOTA: Para corte de amostras de tecidos congeladas, utiliza-se um equipamento denominado de criostato.

10. Com uma pinça resfriar rapidamente o criotubo em NL₂. Retirar a amostra congelada envolvida pelo papel laminado e transferir para o criotubo;

11. Armazenar o criotubo contendo amostra de tecido congelada, em Container de Nitrogênio Líquido ou em freezer -80°C, em equipamento, rack, gaveta e posição previamente estabelecida pelo Setor;

12. Anotar a temperatura do equipamento de armazenagem, no momento do armazenamento (APÊNDICE I).

Transporte, Processamento e Armazenamento de Amostras de Tecidos para Biologia Molecular:

1. Colocar a amostra para congelamento rápido em frasco limpo e estéril e acondicionar em recipiente com gelo de modo que a temperatura esteja entre 2 a 8°C, para transporte;

2. Não congelar o tecido antes da imersão em RNAlater;

3. Fragmentar o tecido em duas amostras de tecido sadio e duas amostras de tecido doente;

4. Reserve no recipiente o RNAlater em quantidade de 5 a 10 vezes o volume da amostra;

5. Armazenar em 4°C durante 24 horas para permitir que a solução de RNAlater penetre o tecido;

6. Remova o sobrenadante;

7. Armazene a amostra em -80°C para longo prazo.

- Ao final, registrar todas as informações referentes à manipulação, preservação e armazenamento da amostra de tecido no Formulário de Registro de Coleta, Transporte, Processamento e Armazenamento de Amostra de Tecido (APÊNDICE I).

-

III. MAPEAMENTO

Não se aplica

REFERENCIAIS TEÓRICOS

Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares/EBSERH – Coordenado pela Secretaria Geral. Manual de Padronização de POPs. Brasília: EBSEH, 2014, 16p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Coleta e Preparo da Amostra Biológica. – Barueri, SP: Minha Editora, 2014.

Portaria do MS nº 2.201 de 14 de setembro de 2011.

Manual de Vigilância Sanitária Sobre o Transporte de Material Biológico Humano Para Fins de Diagnóstico Clínico. ANVISA, 2015.

Resolução CFM Nº 1.823/2007.

APÊNDICE E - FORMULÁRIO DE REGISTRO DE COLETA DE SANGUE

a) Informações Sobre a Coleta

Local da Coleta	
Data e Horário da Coleta	___/___/____, às ___:___
Fez interrupção do uso de alguma medicação para realizar a coleta?	<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se Aplica <input type="checkbox"/> Sim. Qual (is)?
Precisou fazer alguma dieta específica para realizar a coleta?	<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se Aplica <input type="checkbox"/> Sim. Qual (is)?
Interrompeu a prática de alguma atividade física para realizar a coleta?	<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se Aplica <input type="checkbox"/> Sim. Qual (is)?
Qual o horário e data da última refeição? Obs.: Apenas se esta informação for relevante.	Data: ___/___/___ Horário: ___:___
Nome do profissional que realizou a coleta	
Quais as condições em que o sangue coletado foi encaminhado para processamento?	<input type="checkbox"/> Disposto verticalmente em rack <input type="checkbox"/> Disposto verticalmente em rack e dentro de uma caixa de isopor sem refrigeração <input type="checkbox"/> Disposto verticalmente em rack e dentro de uma caixa de isopor contendo gelo <input type="checkbox"/> Disposto verticalmente em rack e dentro de uma caixa de isopor contendo gelox
Observações adicionais sobre a coleta:	

b) Informações sobre a (s) Amostra (s) e tubo (s)

Informações	Ordem dos tubos			
	Tubo 01	Tubo 02	Tubo 03	Tubo 04
ID presente no tubo				
Cor da tampa				
Descrição do conteúdo/aditivo				
Lote do tubo				
Data de validade do tubo				
O tubo é estéril? Obs. Responder “Sim” ou “Não”				
Volume especificado no tubo				
Volume de amostra coletado (ml)				
Fração celular a ser obtida				
Número de inversões do tubo após a coleta				
Informações adicionais sobre a amostra ou tubo				

**APÊNDICE F – FORMULÁRIO DE REGISTRO DE PROCESSAMENTO E
ARMAZENAMENTO DE AMOSTRA SANGUÍNEA**

Processado por (Nome do profissional/pesquisador): _____

- a) Informações sobre identificação, centrifugação, condições pós-centrifugação e armazenameto das amostras:

Informações		Tubos			
Informações Gerais	ID da amostra				
	Data e Hora da chegada da amostra:	___/___/___ às ___:___	___/___/___ às ___:___	___/___/___ às ___:___	___/___/___ às ___:___
	Durante o período de pré-centrifugação a amostra ficou em armazenada em?	<input type="checkbox"/> temperatura ambiente <input type="checkbox"/> refrigerada entre 4 a 8°C	<input type="checkbox"/> temperatura ambiente <input type="checkbox"/> refrigerada entre 4 a 8°C	<input type="checkbox"/> temperatura ambiente <input type="checkbox"/> refrigerada entre 4 a 8°C	<input type="checkbox"/> temperatura ambiente <input type="checkbox"/> refrigerada entre 4 a 8°C
Informações Sobre a Centrifugação	Tempo de Rotação				
	Velocidade				
	Temperatura				
	Houveram quantas centrifugações?	<input type="checkbox"/> uma <input type="checkbox"/> duas			
Informações Sobre Condições das Amostras Pós-Centrifugação e Separação dos Componentes Sanguíneos	Hemolisada?				
	Parcialmente hemolisada?				
	Sem hemólise?				
	Presença de fibrina?				
	Presença de lipemia?				
	Tipo de amostra obtida				
	Número de alíquotas				
	Volume por alíquota				
	Data e Hora do término do processamento:	___/___/___ às ___:___	___/___/___ às ___:___	___/___/___ às ___:___	___/___/___ às ___:___
	Informações adicionais sobre a amostra				

- b) Informações sobre identificação, centrifugação, condições pós-centrifugação e armazenamento das amostras (continuação):

Informações		Tubos			
Informações Sobre Armazenamento	Recipiente de armazenamento				
	ID da Caixa e Posição				
	Equipamento				
	Localização do equipamento				
	Temperatura de armazenagem				
	Temperatura do freezer no momento da armazenagem				
	Data e Hora do armazenamento	___/___/___ às ___:___	___/___/___ às ___:___	___/___/___ às ___:___	___/___/___ às ___:___
	Informações adicionais sobre o armazenamento				

**APÊNDICE G - FORMULÁRIO DE REGISTRO DE EXTRAÇÃO E
ARMAZENAMENTO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS: DNA E RNA**

DNA extraído por (Nome do técnico): _____

a) Informações Sobre Extração, Quantificação e Armazenamento do DNA:

INFORMAÇÕES	AMOSTRAS			
Data da extração?	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
ID da amostra?				
Método de descongelamento da amostra se for caso?				
Condições da amostra sanguínea durante a extração?	() mantida em temperatura ambiente () mantida em recipiente com gelo	() mantida em temperatura ambiente () mantida em recipiente com gelo	() mantida em temperatura ambiente () mantida em recipiente com gelo	() mantida em temperatura ambiente () mantida em recipiente com gelo
Número de alíquotas obtidas?				
Volume por alíquota?				
Concentração do DNA (em ng/μL)?				
Pureza do DNA (razão de absorbâncias a 260/280 nm)?				
Recipiente de armazenamento?				
ID da Caixa e Posição?				
Equipamento de armazenagem?				
Localização do equipamento?				
Temperatura de armazenagem?				
Temperatura do freezer no momento da armazenagem?				
Data do armazenamento?	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
Informações adicionais sobre o armazenamento				

RNA extraído por (Nome do técnico): _____

a) Informações Sobre Extração, Quantificação e Armazenamento do RNA:

INFORMAÇÕES	AMOSTRAS			
ID da amostra?				
A coleta foi realizada em tubo contendo aditivo estabilizador de RNA?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Local de armazenamento da amostra sanguínea no período entre a coleta e extração?	<input type="checkbox"/> temperatura ambiente <input type="checkbox"/> refrigerada entre 4 a 8°C	<input type="checkbox"/> temperatura ambiente <input type="checkbox"/> refrigerada entre 4 a 8°C	<input type="checkbox"/> temperatura ambiente <input type="checkbox"/> refrigerada entre 4 a 8°C	<input type="checkbox"/> temperatura ambiente <input type="checkbox"/> refrigerada entre 4 a 8°C
Data da extração?	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
Condições da amostra sanguínea durante a extração e alíquotagem?	<input type="checkbox"/> mantida em temperatura ambiente <input type="checkbox"/> mantida em recipiente com gelo	<input type="checkbox"/> mantida em temperatura ambiente <input type="checkbox"/> mantida em recipiente com gelo	<input type="checkbox"/> mantida em temperatura ambiente <input type="checkbox"/> mantida em recipiente com gelo	<input type="checkbox"/> mantida em temperatura ambiente <input type="checkbox"/> mantida em recipiente com gelo
Número de alíquotas obtidas?				
Volume por alíquota?				
Concentração do RNA (em ng/μL)?				
Pureza do RNA (razão de absorbâncias a 260/280 nm)?				
Recipiente de armazenamento?				
ID da Caixa e Posição?				
Equipamento de armazenagem?				
Localização do equipamento?				
Temperatura de armazenagem?				
Temperatura do freezer no momento da armazenagem?				
Data do armazenamento?	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
Informações adicionais sobre o armazenamento				

APÊNDICE H - FORMULÁRIO DE REGISTRO DE COLETA DE AMOSTRA DE TECIDO

a) Informações sobre a amostra e coleta

ID do Participante	
Data da coleta	___/___/___
Local da coleta	
Tipo de tecido	
Tipo de coleta	() Peça Cirúrgica () Biópsia
Peça Cirúrgica:	
Hora do clampeamento	__:__
Hora da retirada da peça cirúrgica	__:__
Hora da obtenção da amostra para pesquisa	__:__
Tamanho da peça retirada	
Tamanho da amostra obtida para pesquisa	
Quantidade de amostra obtida para pesquisa	
Informações adicionais sobre o tecido retirado	
Diagnóstico definitivo	
Houve captação de tecido normal?	() Sim. Qual? _____ () Não
Tamanho da amostra obtida de tecido normal para pesquisa	
Quantidade de amostra obtida de tecido normal para pesquisa	
Biópsia:	
Hora da retirada do fragmento para biópsia	__:__
Hora da obtenção da amostra para pesquisa	__:__
Tamanho ou volume do fragmento obtido para biópsia	
Tamanho ou volume da amostra obtida para pesquisa	
Quantidade de amostra obtida para pesquisa	
Informações adicionais sobre o tecido retirado	
Um patologista identificou o tecido destinado à pesquisa?	() Sim () Não
Nome do profissional que realizou a coleta	
Nome do Profissional que recebeu a amostra de tecido	

**APÊNDICE I - FORMULÁRIO DE REGISTRO DE TRANSPORTE,
PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRA DE TECIDO**

a) Informações sobre transporte de amostra de tecido

ID da amostra	
Nome do Profissional que transportou a amostra de tecido	
Houve extravasamento de material biológico durante o transporte?	() Sim () Não
Condições do recipiente durante o transporte	() Recipiente vedado () Recipiente aberto () Disposto em rack, em posição vertical () Deitado no recipiente para transporte () Em saco plástico

b) Informações sobre processamento de amostra de tecido fixado e incluído em bloco de parafina

Hora e data da chegada da amostra no local de processamento	___/___/___, às ___:___
Nome do profissional que recebeu a amostra	
Reagente fixador utilizado	
Tempo gasto entre a coleta da amostra e imersão no reagente fixador?	Minutos: _____ Horas: _____
Temperatura da parafina durante inclusão da amostra	
Houve desinfecção das lâminas antes de fixar o tecido?	() Sim () Não
Substância utilizada para fixar o tecido na lâmina?	
A inclusão da amostra em parafina foi realizada logo após o tempo de infiltração?	() Sim () Não
As lâminas contendo os cortes de tecidos foram levadas à estufa?	() Sim () Não
Todas as amostras foram mantidas com a área clivada voltada para o fundo do molde de parafina?	() Sim () Não
Data e horário da concentração dos reagentes utilizados:	
Solução _____	___/___/___, às ___:___

Solução _____	___/___/___, às ___:___
Tipo de processamento	<input type="checkbox"/> Manual <input type="checkbox"/> Automático
Condições do ambiente de processamento	<input type="checkbox"/> Temperatura ambiente <input type="checkbox"/> Refrigerado com Ar Condicionado

c) Informações sobre armazenamento de amostra de tecido fixado e incluído em bloco de parafina

Nome do profissional responsável pelo armazenamento	
Os blocos de parafina contendo tecido foram identificados apropriadamente?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Sala	
Equipamento	
Gaveta	
Posição	
A sala de armazenamento é refrigerada?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Existe meio para controle de temperatura?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Temperatura da sala no momento da armazenagem?	

d) Informações sobre armazenamento de lâmina contendo amostra de corte de tecido fixado e incluído em bloco de parafina

Nome do profissional responsável pelo armazenamento	
As lâminas foram identificadas apropriadamente?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Sala	
Equipamento	
Gaveta	
Compartimento	
ID da caixa	
Posição dentro da caixa	
Temperatura de armazenagem	
Temperatura do equipamento no momento da armazenagem	
A sala de armazenamento é refrigerada?	
Existe meio para controle de temperatura da sala?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Temperatura da sala no momento da armazenagem?	

e) Informações sobre processamento de amostra de tecido em Nitrogênio Líquido (NL₂)

ID da amostra	
Hora e data da chegada da amostra no local de processamento	___/___/___, às ___:___
Nome do profissional que recebeu a amostra	
Hora da congelação da amostra	___:___
Tempo entre a coleta da amostra e congelação?	Minutos: _____ Horas: _____
Tipo de congelação	() Lenta em refrigerador () Vítreia em NL ₂
A amostra foi congelada em qual temperatura?	
Foi utilizado crioprotetor?	() Sim. Qual? _____ () Não
Foi utilizada solução que facilita a troca de temperatura entre a amostra e o meio extratecidual?	() Sim. Qual? _____ () Não
A etiqueta utilizada nos frascos das amostras durante o processamento é resistente a ultrabaixa temperatura?	() Sim () Não

f) Informações sobre armazenamento de amostra de tecido congelada

Nome do profissional responsável pelo armazenamento	
Data e hora de armazenamento do tecido congelado?	___/___/___ ___:___
Tipo de recipiente de armazenagem	
Sala?	
Equipamento?	
Rack?	
Gaveta?	
Posição?	
ID da Caixa?	
Posição na caixa?	
Temperatura de armazenagem?	
Temperatura do equipamento no momento da armazenagem?	
A etiqueta utilizada no recipiente para armazenamento das amostras é resistente a ultrabaixa temperatura?	() Sim () Não

APÊNDICE J – MODELO DE FORMULÁRIO, VISANDO A CRIAÇÃO DO SISTEMA DE CADASTRO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA E GERAÇÃO DO ID (IDENTIFICADOR ÚNICO) DO PARTICIPANTE

O modelo de formulário proposto visando à criação do Sistema de Cadastro do Participante da Pesquisa contém três campos capazes de reunir as informações relevantes para a pesquisa, quais sejam:

- Campo A – informações sobre a pesquisa e Biorrepositório;
- Campo B – informações sobre o participante da pesquisa;
- Campo C – método proposto para gerar o código do identificador único (ID) do participante da pesquisa.

Uma vez tendo obtido o consentimento do participante da pesquisa, uma cópia do TCLE, por ele assinada, deve ser disponibilizada para o Setor. Em seguida, realiza-se o cadastro do participante por um membro da equipe treinado e autorizado para tal atividade. Posteriormente, deve ser gerado o ID (Identificador Único) do participante que deverá ser fixado ao recipiente de coleta e processamento da amostra, até que ela seja separada em alíquotas para armazenamento. Ocasão na qual, as amostras (agora separada em alíquotas) receberão um novo ID. Vale ressaltar que todas as informações registradas sobre o Participante e sobre o Biorrepositório, por meio eletrônico, deve ter um segundo armazenamento backup, protegido por senha.

1. CAMPO A – Informações Sobre a Pesquisa e Biorrepositório

Título da Pesquisa	
Pesquisador	
Número parecer CEP	
Tipo de Pesquisa	<input type="checkbox"/> Grupo de Estudo. Especificar: _____ <input type="checkbox"/> Pós Doutorado. Especificar o Programa: _____ <input type="checkbox"/> Doutorado. Especificar o Programa: _____ <input type="checkbox"/> Mestrado. Especificar o Programa: _____ <input type="checkbox"/> Graduação. Especificar o Curso: ____ <input type="checkbox"/> Indústria Farmacêutica; <input type="checkbox"/> Outras. Especificar: _____
Tipo (s) de amostra (s)	<input type="checkbox"/> Plasma; <input type="checkbox"/> Soro; <input type="checkbox"/> Buffy Coat; <input type="checkbox"/> DNA; <input type="checkbox"/> RNA; <input type="checkbox"/> Tecido
Quantidade de amostras / alíquotas e volumes previstos para armazenamento?	Quantidade: Volume de cada frasco / tubo:
Pesquisa Envolve Mais de Uma Instituição?	<input type="checkbox"/> Sim. Especificar <input type="checkbox"/> Não
Há Encaminhamento de Amostra Para Instituição Internacional?	<input type="checkbox"/> Sim. Especificar <input type="checkbox"/> Não
Destinação do Biorrepositório ao final do período de realização da pesquisa	<input type="checkbox"/> Renovação de autorização de armazenamento; <input type="checkbox"/> Transferência para Biobanco; <input type="checkbox"/> Descarte
Procedimento de Destruição e Descarte das Amostras	
Membro (s) da Equipe Executora Com Acesso ao Cadastro do Biorrepositório	Nome completo: _____ CPF: _____ Telefone: () _____
Membro (s) da Equipe Executora Com Acesso ao Cadastro do participante	
Membro (s) da equipe com acesso às amostras	

2. CAMPO B – Informações Sobre o Participante da Pesquisa:

ID do participante	
Data de Nascimento	
Sexo	<input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Feminino
Procedência do Participante	
Telefone do Participante	
Endereço do participante	
Nome e contato do responsável (quando o Participante for menor de idade ou incapacitado)	Nome: _____ Telefone: () _____
Exames solicitados	
Tipo (s) de amostra (s) a ser coletada	<input type="checkbox"/> Plasma; <input type="checkbox"/> Soro; <input type="checkbox"/> Buffy Coat;

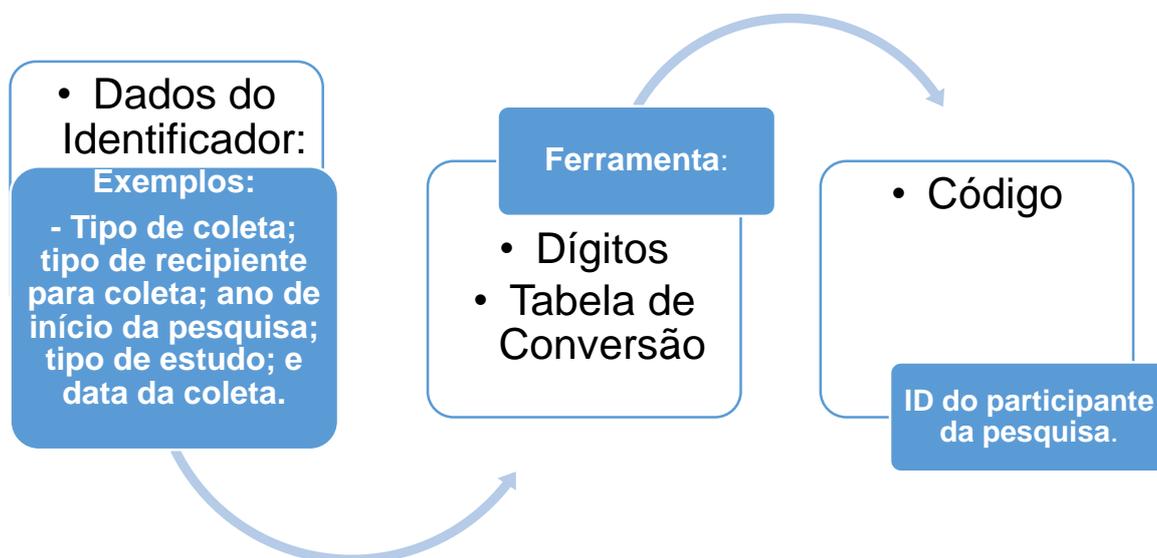
	() DNA; () RNA; () Tecido
Descrição do Procedimento	
Informações adicionais (específicas para cada pesquisa), em conformidade com o exame solicitado:	
Faz uso de algum medicamento?	() Sim. Qual (is): () Não. () Desconhecido.
Fuma?	() Sim. () Não. () Desconhecido.
Ingere bebida alcoólica?	() Sim. Frequência: () Não. () Desconhecido.
Realiza alguma atividade física?	() Sim. Qual (is): () Não. () Desconhecido.
Faz uso de alguma dieta específica?	() Sim. Qual (is): () Não. () Desconhecido.
Algum diagnóstico confirmado?	() Sim. Qual (is): () Não. () Desconhecido.
Outras informações relevantes (específicas para cada pesquisa), como fatores de risco e dados clínico-laboratoriais.	

3. CAMPO C – Método proposto para gerar o código do identificador único (ID) do participante da pesquisa

A proposição para gerar o ID do participante da pesquisa, consiste em:

O hospital, por meio do setor de TI (Tecnologia da Informação), poderá desenvolver uma ferramenta computacional (software contendo uma tabela de conversão), aonde são inseridas informações sobre o Participante e/ou pesquisa (Figura 1). A ferramenta converte esses dados em dígitos e em seguida é gerado um código ID, de forma que não se repita. Desta forma, a identidade do participante é protegida com mais segurança. O ID gerado vai constar no Sistema de Cadastro do Participante da Pesquisa e nos rótulos dos recipientes utilizados na coleta.

Figura 1 – Método de geração do código ID através de uma ferramenta contendo tabela de conversão. Os dados da pesquisa ou dados clínicos do participante da pesquisa são inseridos no software (à esquerda), em seguida a ferramenta transforma esses dados em dígitos (no meio) e consequentemente, esses dígitos são convertidos em códigos (à direita), de modo que não se repete.



c) **Rastreabilidade**

O Sistema de Cadastro do Cadastro Participante é o meio utilizado para recuperar informações relativas ao Participante da Pesquisa e à coleta. O código ID do Participante gerado é o instrumento de busca no Cadastro.

APÊNDICE K – MODELO DE FORMULÁRIO, VISANDO A CRIAÇÃO DO SISTEMA DE CADASTRO DA AMOSTRA BIOLÓGICA E GERAÇÃO DO ID (IDENTIFICADOR ÚNICO) DA AMOSTRA ARMAZENADA

O modelo de formulário proposto visando à criação do Sistema de Cadastro da Amostra deve ser simples e capaz de rastrear o login de acesso, bem como horário e dia do acesso e deve conter as seguintes informações:

ID do participante da pesquisa	
ID da amostra	
Localização de armazenamento da amostra	Sala: Equipamento: Prateleira: Rack: Caixa: Posição na Caixa:
Retirada da amostra	Motivo da retirada: Hora e data da retirada: Pessoa responsável pela retirada:

As amostras devem chegar à sala de processamento do laboratório, identificadas pelo ID do participante, sem nenhuma informação referente ao sujeito da pesquisa. Deve-se criar o Sistema de Cadastro de Amostra, informatizado (com a ajuda do Setor de Tecnologia da Informação) que exija senha para acesso e que esteja instalado em um computador do laboratório. O técnico que receber as amostras deve registrar no Sistema de Cadastro de Amostra os códigos contidos nas etiquetas de cada recipiente de coleta. Após isto, Sistema deve ser capaz de gerar um ID (Identificador Único) único e referente a cada amostra, e ao mesmo tempo associar o ID da amostra com o ID do Participante da Pesquisa. Sugere-se que este ID também esteja disponível em código de barras. O ID da amostra vai ser afixado em cada alíquota obtida após o processamento, sendo que todas as alíquotas referentes à mesma amostra devem ter o mesmo ID. Esta planilha servirá tanto para dissociar a amostra do ID do participante para armazenagem, quanto para registrar a localização de armazenagem da amostra.

Ressalta-se, que no Sistema de Cadastro de Amostra, será registrado apenas o ID do participante, o ID da amostra e o local de armazenagem da amostra, de modo que seja possível fazer a associação futura quando queira rastrear a localização de armazenagem do material biológico, não constando nenhuma informação associada à amostra e ao participante. Com isto, é possível separar a identificação das alíquotas armazenadas em Biorrepositório, dos números

de registros dos participantes da pesquisa e ao mesmo tempo garantir a sua localização quando necessário, bastando inserir o ID da amostra no Sistema de Cadastro, manualmente ou por meio de código de barras presentes nos rótulos dos tubos de coleta (os quais devem ser reservados em um local seguro). Do mesmo modo, quando houver a necessidade de recuperar o ID do participante da pesquisa através das alíquotas armazenadas, basta inserir no Sistema de Cadastro da amostra, manualmente ou por meio de código de barras, o ID presente no recipiente de armazenagem. É pertinente frisar que esta associação, permite localizar apenas o ID do participante e não as informações referentes ao participante da pesquisa, garantindo a privacidade e confidencialidade das informações associadas à amostra e ao Participante.

As etiquetas, contendo ou não códigos de barras, devem ser impressas em material adesivo, impermeável e apropriado para a temperatura aonde vão ser armazenadas as amostras. A identificação deve acompanhar todos os materiais obtidos durante os testes, processamento, criopreservação, armazenamento, descongelamento e retirada. Para a escolha da etiqueta, devem-se seguir as informações do fabricante sobre as condições de resistência.

O método de identificação de amostra propostos a seguir, além de poder rastrear algumas variáveis pré-analíticas, protege a identidade do participante da pesquisa de forma segura.

d) Método proposto para gerar o Código de Identificador Único (ID) de amostra biológica

A proposição para gerar o ID do participante da pesquisa, consiste em:

O hospital, por meio do setor de TI (Tecnologia da Informação), poderá desenvolver uma ferramenta computacional (software contendo uma tabela de conversão), aonde são inseridas informações gerais sobre material biológico (Figura 1), a qual funcionará como uma espécie de banco de dados compilados. Este banco de dados deve ser o mais completo possível, constando informações sobre as variáveis pré-analíticas existentes. A ferramenta converte esses dados em dígitos e em seguida é gerado um código ID, de forma que não se repita. Desta forma, é feita a dissociação entre o ID do participante e a sua amostra biológica. O ID gerado vai constar no Sistema de Cadastro de amostra biológica e nos rótulos dos recipientes para armazenagem. A seguir, têm-se exemplos de variáveis pré-analíticas (Quadros 1, 2, 3 e 4) e possíveis dígitos (os dígitos contidos na tabela são apenas exemplos) que podem ser gerados.

Quadro 1 - Exemplos de variáveis pré-analíticas correspondentes aos recipientes de armazenamento de amostras pertencentes à Biorrepositórios armazenados no HU-UFMA que poderão ser inseridas em ferramenta computacional para ser transformada em dígitos e, consequentemente, geração do código ID.

Dígitos	Identificador (Tipo de Recipiente)
1	Criotubo
2	Palheta
3	Eppendorf
4	Tubo de Coleta
5	Container de Nitrogênio Líquido (NL ₂)
6	Freezer -80°C
7	Freezer -20°C
8	Refrigerador com temperatura entre 2°C a 8°C
9	Cassete contendo bloco de parafina
10	Lâmina com corte de tecido

Quadro 2 - Exemplos de variáveis pré-analíticas correspondentes aos tipos de amostras pertencentes à Biorrepositórios armazenados no HU-UFMA, que poderão ser inseridas em ferramenta computacional para ser transformada em dígitos e, consequentemente, geração do código ID.

Dígitos	Identificador (Tipo de Amostra)
01	Plasma
02	Soro
03	BuffyCoat
04	DNA
05	RNA
06	Urina

Quadro 3 - Exemplos de variáveis pré-analíticas referentes ao tempo entre coleta e armazenamento de amostras pertencentes à Biorrepositórios armazenados no HU-UFMA, que poderão ser inseridas em ferramenta computacional para ser transformada em dígitos e, consequentemente, geração do código ID.

Dígitos	Identificador (Tempo gasto entre a coleta armazenamento da amostra)
1	Tempo entre a coleta e armazenamento menor que duas horas*
2	Tempo entre a coleta e armazenamento maior que duas horas

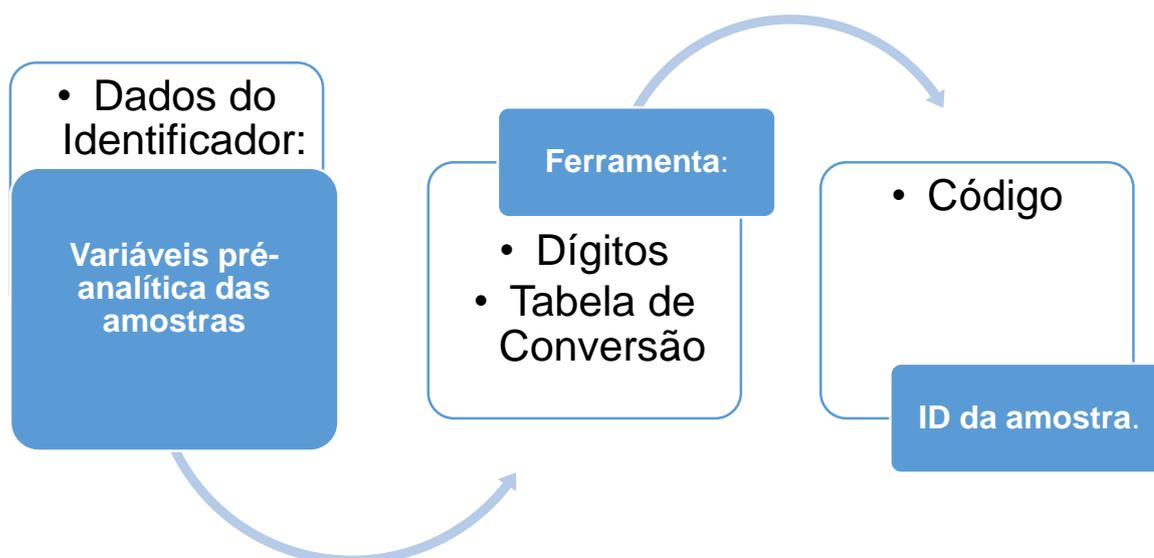
*O plasma e soro deve ser removido da camada celular em até 2 horas a coleta da amostra (SBPC, 2010, p. 35)¹¹.

¹¹ SBPC/ML. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial: Coleta de Sangue Venoso. 2ª ed. Barueri, SP: Minha Editora, 2010.

Quadro 4 - Exemplos de variáveis pré-analíticas referentes às amostras de tecidos pertencentes à Biorrepositório armazenados no HU-UFMA, que poderão ser inseridas em ferramenta computacional para ser transformada em dígitos e, conseqüentemente, geração do código ID.

Dígitos	Identificador (Tipo de Recipiente)
Primeiro dígito	Tipo de recipiente utilizado na armazenagem
Segundo dígito	Tipo de equipamento de armazenagem
Terceiro dígito	Método utilizado na conservação
Quarto dígito	Tempo entre a coleta e processamento
Quinto sexto, sétimo e oitavo dígitos	Número de amostra cadastrada no Setor (número sequencial) *

Figura 1 – Método de geração do código ID através de uma ferramenta contendo tabela de conversão. Os dados da amostra biológica são inseridos no software (à esquerda), em seguida a ferramenta transforma esses dados em dígitos (no meio) e conseqüentemente, esses dígitos são convertidos em códigos (à direita), de modo que não se repete.



a) Rastreabilidade e Retirada da amostra

O Sistema de Cadastro de Amostra é o meio utilizado para recuperar informações relativas à localização da amostra. O código ID da amostra gerado é o instrumento de busca no Sistema de Cadastro. O Sistema deve conter senha de acesso e apenas pessoas autorizadas deve acessar tais informações e deve ser capaz de rastrear o login de acesso, bem como o dia e horário de acesso.

O Sistema de Cadastro de Amostra deve conter campos para registros de informações sobre retiradas das amostras, nos quais deve constar: motivo da retirada; pessoa responsável pela retirada; e hora e data da retirada.