

Estudo de estabilidade de amostras no laboratório clínico: garantia de qualidade dos resultados e da segurança para o paciente

Study of specimen stability in clinical laboratories: ensuring quality of results and patients' safety

Maria Elizabete Mendes

Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HCUSP), São Paulo, São Paulo, Brasil.

Erros na fase pré-analítica podem explicar os resultados que levam a testes clinicolaboratoriais desnecessários, induzindo decisões clínicas inadequadas, trazendo danos aos pacientes e aumentando os custos. Isso justifica uma maior conscientização sobre a importância e a necessidade de um gerenciamento mais preciso nesta etapa do ciclo de testes laboratoriais. A sistematização e o monitoramento dessas variáveis caracterizam laboratórios organizados e eficientes, que primam pela qualidade dos serviços e se esforçam por melhorar a segurança dos seus pacientes.

Algumas das principais fontes de variabilidade pré-analítica são transporte e armazenamento de amostras, associadas à preparação para as análises laboratoriais. A boa governança dessa fase implica avaliação dos riscos, estabelecimento de políticas para prevenir erros e acidentes com o material biológico coletado, aumento e diversificação das barreiras de proteção, bem como a diminuição da vulnerabilidade do processo⁽¹⁾.

Na prática, o uso de laboratórios de referência tornou-se rotina para exames especializados e de baixa demanda, realizados em diversos materiais, como o líquido cefalorraquidiano (LCR). O transporte para essa finalidade depende de vários tipos de logística e segue parâmetros bem definidos para acondicionamento das amostras. Esse cuidado visa assegurar que os resultados obtidos nessas amostras sejam comparáveis com aqueles resultantes de dosagens efetuadas imediatamente após a coleta, sem que haja comprometimento de sua qualidade⁽²⁾. Assim, as variações pré-analíticas relacionadas com o tempo de armazenamento e a temperatura, bem como as condições de transporte das amostras, são relevantes⁽³⁾.

Estudar a estabilidade das amostras é uma boa prática no laboratório clínico, como observado no trabalho de Domingues *et al.*⁽⁴⁾ (2019), que se destaca por avaliar a estabilidade em material nobre, cujo interesse tem sido crescente nas últimas décadas devido às análises para o diagnóstico neuroquímico nas investigações das doenças neurodegenerativas: a doença de Alzheimer é a mais comum⁽⁵⁾. Também é relevante nos estudos colaborativos para a investigação do LCR em doenças neuroinflamatórias, como a esclerose múltipla, na busca por bandas oligoclonais de imunoglobulina da classe G (IgG) ou por síntese de IgG intratecal.

Outra aplicação para esse tipo de estudo é a utilização de materiais armazenados por longos períodos de tempo em biobancos para fins de pesquisas clínicas, visando assegurar que o poder estatístico obtido por um grande número de amostras não seja comprometido por fatores pré-analíticos, possibilitando comparações entre resultados de diferentes laboratórios. Essa padronização permite aos pesquisadores replicar estudos com amostras que correspondam aos dados pilotos iniciais⁽⁷⁾. Os LCRs armazenados têm sido utilizados nas pesquisas com biomarcadores moleculares, como nos estudos de proteoma para moléculas de baixo peso molecular^(8, 9) ou de metabolômica, que utilizam técnicas de elevada exatidão (como a espectrometria de massas), mas requerem a verificação de amostras, dada a sua necessidade de amostras íntegras⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Vários autores têm quantificados os efeitos dos fatores pré-analíticos em LCR, incluindo: a influência de diferentes tipos de agulha para a punção⁽¹³⁾; o horário da punção; o sítio de punção (sendo a punção lombar mais comumente empregada, como no artigo de Domingues *et al.*); os tubos para a coleta e armazenamento de amostras⁽¹⁴⁾; a manipulação da amostra e a forma de armazenamento.

Na avaliação da estabilidade do LCR, estudou-se a influência da centrifugação em LCR atraumático (eritrócitos < 500/mm³), além de tipos de fracionamento de amostras, temperatura de transporte (2-8°C, -20°C, gelo seco) e efeitos de temperatura de congelamento (-20°C, -80°C, uso de nitrogênio líquido), estabilidade do tempo de congelamento das amostras, demora para congelar o LCR e ciclos de descongelamento⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

Para as análises laboratoriais de LCR, a padronização da fase pré-analítica é imprescindível porque garante a obtenção de amostras com padrão de qualidade definido, com resultados confiáveis que garantam resultados clínicos adequados, melhorando a segurança do paciente.

REFERÊNCIAS

1. Lippi G, Chance JJ, Chuch S, et al. Preanalytical quality improvement: from dream to reality. *Clin Chem Lab Med*. 2011; 49: 1113-26.
2. CLSI. Procedures for the handling and processing of blood specimens for common laboratory tests; approved guideline – fourth edition. CLSI document GP44-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
3. Plebani M. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? *Clin Chem Lab Med*. 2006; 44: 750-9.
4. Domingues R, Brunale F, Bruniera G, Senne C. Assessment of cytological and biochemical parameters stability in cerebrospinal fluid. *J Bras Patol Med Lab*. 2019; 55(3): 258-66.
5. Lewczuk P, Wiltfang J. Neurochemical dementia diagnostics: state of the art and research perspectives. *Proteomics*. 2008; 8: 1292-1301.
6. Vanderstichele H, Bibl M, Engelborgs S, et al. Standardization of preanalytical aspects of cerebrospinal fluid biomarkers testing for Alzheimer's disease diagnosis: a consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative. *Alzheimers Dement*. 2012; 8: 65-73.
7. Willems EAJ, Uffelen KWJ, van de Flier WM, Teunissen CE. Effect of long-term storage in biobanks on cerebrospinal fluid biomarker Abeta1-42, T-tau and P-tau values. *Alzheimer's Dement*. 2017; 8: 45-50.
8. Berven FS, Kroksveen AC, Berle M, et al. Pre-analytical influence on the low molecular weight cerebrospinal fluid proteome. *Proteomics Clin Appl*. 2007; 1: 699-711.
9. Simonsen AH, Bahal JMC, Danborg PB, et al. Pre-analytical factors influencing the stability of cerebrospinal fluid proteins. *J Neurosci Met*. 2013; 215: 234-40.
10. Noga MJ, Zielman R, van Dongen RM, et al. Strategies to assess and optimize stability of endogenous amines during cerebrospinal fluid sampling. *Metabolomics*. 2018; 14: 44.
11. Rosenling TR, Stoop MP, Smolinska A, et al. The impact of delayed storage on the measured proteome and metabolome of human cerebrospinal fluid. *Clin Chem*. 2011; 57(12): 1703-11.
12. Greco V, Pieragostino D, Piras C, et al. Direct analytical sample quality assessment for biomarker investigation: qualifying cerebrospinal fluid samples. *Proteomics*. 2014; 14: 1954-62.
13. Teunissen CE, Petzold A, Bennett JL, et al. A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking. *Neurology*. 2009; 73: 1914-22.
14. Fourier A, Portweliu E, Zetterberg H, Blennow K, Quadrio I, Liaudet AP. Pre-analytical and analytical factors influencing Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarker variability. *Clin Chim Acta*. 2015; 449: 9-15.
15. Le Bastard N, De Deyn PP, Engelborghs S. Importance and impact of preanalytical variables on Alzheimer disease biomarker concentrations in cerebrospinal fluid. *Clin Chem*. 2015; 61(5): 734-43.
16. Zimmermann R, Lelental N, Ganslandt O, Maler JM, Kornhuber J, Lewczuk P. Preanalytical sample handling and sample stability testing for the neurochemical dementia diagnostics. *J Alzheimers Dis*. 2011; 25: 739-45.
17. Klener J, Hofbauerová K, Bartos A, Rícný J, Ripova D, Kopecký V. Instability of cerebrospinal fluid after delayed storage and repeated freezing: a holistic study by drop coating deposition Raman spectroscopy. *Clin Chem Lab Med*. 2014; 52(5): 657-64.

AUTOR CORRESPONDENTE

Maria Elizabete Mendes  0000-0001-9835-8761
e-mail: m.mendes@hc.fm.usp.br



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.