

1- COLETA DE SANGUE PERIFÉRICO

A coleta de sangue periférico também é conhecida como “venopunção” e “flebotomia”, tendo em vista que o profissional que realiza a coleta é chamado de flebotomista. O sangue periférico é coletado para que seja possível executar exames de tipagem sanguínea, exames de bioquímica, glicemia e coagulação e o sangue arterial é coletado para a realização da gasometria arterial.

1.1- Locais de Venopunção

O sangue venoso pode ser coletado no braço (veia mediana basilíca, veia mediana cefálica, veia mediana cubital e veia longitudinal), no dorso das mãos e dos pés e, em casos mais extremos, microcoleta de sangue capilar; enquanto o sangue arterial pode ser coletado da artéria radial ou da artéria cubital.

1.2- Sangue Arterial, Venoso e Capilar

As artérias saem do coração e levam o sangue rico em O_2 para a oxigenação de órgãos e tecidos do corpo, diminuindo seu calibre enquanto se distanciam do coração. São mais calibrosas e de difícil acesso. Coletas arteriais devem ser feitas preferencialmente nas artérias radial ou cubital e têm o objetivo de medir a gasometria arterial do paciente.

As veias levam o sangue do corpo de volta para o coração para que ele possa ser bombeado novamente para o corpo. Elas aumentam seu calibre enquanto se aproximam do coração e possuem sangue rico em CO_2 . A coleta venosa é feita nas veias medianas basilíca, cefálica ou cubital e na veia longitudinal, podendo também ser feita no dorso das mãos ou dos pés caso o flebotomista encontre dificuldades de realizar a coleta nos braços do paciente.

Os capilares são vasos sanguíneos delgados que possuem paredes finas e formam uma rede complexa de vasos nos órgãos e tecidos. Nos capilares ocorrem as trocas gasosas. Coletas capilares são utilizadas tanto para análise de gases sanguíneos quanto para a determinação de glicose no sangue.

1.3- Assepsia/Antissepsia/Desinfecção/Esterilização

Assepsia é o processo feito para a diminuição e/ou eliminação de bactérias como um conjunto de medidas para manter um meio inerte ou um ser vivo isento de micro-organismos. (Ex: uso de álcool 70% para a limpeza de bancadas ou das mãos). Antissepsia é a desinfecção de organismos vivos com anti-sépticos. (Ex: limpeza da pele antes da flebotomia). Desinfecção elimina os microorganismos patogênicos, com exceção de esporos, enquanto a esterilização destrói por completo toda e qualquer forma de micro-organismo presente.

1.4- Tubos Utilizados na Coleta

São utilizados na coleta tubos à vácuo que podem ou não possuir anticoagulantes ou ativadores de coágulo em seu interior. É recomendado o

uso de coleta à vácuo para que, em uma única punção, haja uma coleta múltipla e para que haja melhor conforto do paciente.

Os tubos possuem um padrão de cores (figura) que identificam quais aditivos estão presentes em seu interior, e existe uma recomendação de sequência a ser seguida para que seja evitada a contaminação cruzada de aditivos nos tubos subsequentes caso haja coleta múltipla do mesmo paciente.

- Citrato de Sódio (Azul): é utilizado para a prova de coagulação em amostras;
- Ativador de Coágulo (Vermelho): a sílica (ativador de coágulo) presente no interior do tubo faz com que o processo de coagulação seja acelerado, sendo utilizado na Bioquímica e na Sorologia;
- Ativador de Coágulo + Gel (Amarelo): possui a sílica nas paredes internas do tubo e também um gel separador que permite a obtenção de soro com maior qualidade. Utilizados na Bioquímica, Sorologia e Imunologia;
- EDTA (Roxo ou Rosa): possui anticoagulante em seu interior e é utilizado em bancos de sangue e na rotina de hematologia. O EDTA é o melhor anticoagulante por preservar a morfologia celular;
- Heparina de Lítio (Verde): os aditivos presentes neste tubo são anticoagulantes que ativam enzimas antiplaquetárias, bloqueando a cascata de coagulação. São utilizados para análises bioquímicas do plasma;
- Fluoreto de Sódio + EDTA (Cinza): o fluoreto de sódio é um inibidor glicolítico e o EDTA preserva a morfologia celular, fazendo com que estes tubos sejam utilizados na dosagem de glicose, lactato e hemoglobina glicada no plasma.

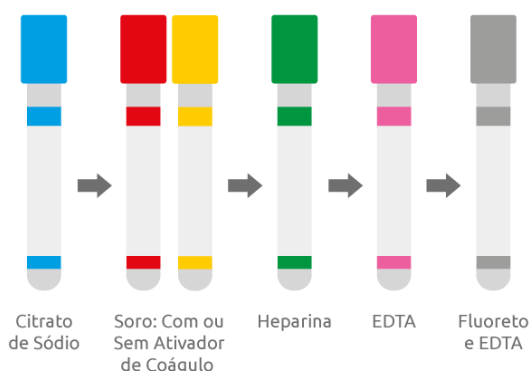


Figura 1: Tubos de coleta na sequência correta. Fonte <<http://www.kasvi.com.br/tubos-de-coleta-vacu-analise-sangue-cores-beneficios/>> Disponível. Acesso em 02/04/2018.

1.5- Coleta de Sangue Venoso: Passo a Passo

O passo a passo deve ser seguido igualmente para os métodos de coleta normal e coleta à vácuo até o passo 5. Os passos 6 e 7 são para coleta normal enquanto os passos 8 e 9 são para coleta à vácuo.

- 1- Preparar o braço do paciente e verificar pelo tato qual será a veia puncionada para a coleta;
- 2- Organizar a bancada na frente do paciente para que ele veja que os materiais utilizados são novos e descartáveis;
- 3- Conferir se a documentação de identificação do paciente condiz com a identificação das etiquetas a serem coladas nos tubos;
- 4- Seguir com a antissepsia do local a ser puncionado; abrir e montar os materiais de coleta (seringa e agulha) na frente do paciente;
- 5- Posicionar a agulha com o bisel sempre voltado para cima e puncionar a veia escolhida (Figura 2);
- 6- Puxar o êmbolo da seringa até que o volume desejado de sangue seja obtido; Ao retirar a agulha, pressionar o local puncionado com um pedaço de algodão (Figura 2);
- 7- Por fim, inserir a agulha na tampa do tubo e deixar que o sangue coletado flua para o interior do tubo (Figura 2).



Figura 2: Passo a passo da punção venosa utilizando seringa. Fonte: Laboratório Rômulo Rocha (UFG) (2018).

- 8- O tubo de coleta deve ser acoplado na agulha própria de coleta à vácuo. Este método é escolhido quando precisa ser feita coleta de vários tubos do paciente (Figura 3);
- 9- Acoplar os tubos e deixar com que o vácuo em seu interior colete o volume necessário de sangue (Figura 3);

3). 10- Após a coleta, pressionar o local puncionado com algodão (Figura



Figura 3: Processo de coleta à vácuo. Fonte: Laboratório Rômulo Rocha (UFG) (2018).

2- DISTENSÃO DO SANGUE

Após a coleta do sangue existem alguns passos a serem seguidos para a análise morfológica dos elementos que compõem este tecido conjuntivo.

2.1- Etapas da Produção de Esfregaço: Passo a Passo

1- Separar a lâmina com identificação do paciente ou do número de protocolo do registro do paciente. Verificar se a lâmina não possui vestígios de sujeira ou gordura pois estes podem prejudicar a confecção do esfregaço e também sua visualização no microscópio;

2- Pingar uma gota do sangue na extremidade inferior da lâmina com uma pipeta ou com a própria agulha com o sangue que sobrou dentro da seringa (Figura 2);

3- Aproximar a lâmina extensora da gota de sangue e, por capilaridade, deixar que a gota se espalhe por sua borda (Figura 3);

4- Deslizar a lâmina extensora em um ângulo de 45° em uma velocidade estável para que o sangue seja espalhado pela lâmina de microscopia (Figura 3);

5- Deixar que a lâmina seque sem interferências e seguir para a coloração.

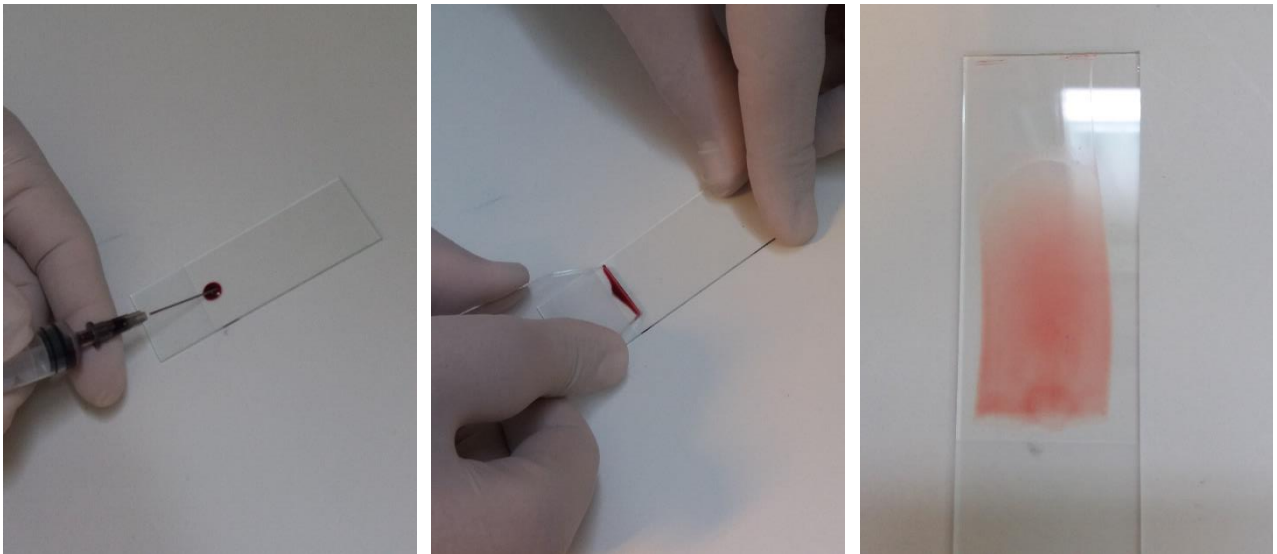


Figura 3: Processo de confecção do esfregaço sanguíneo. Fonte: Laboratório Rômulo Rocha (UFG) (2018).

2.2- Erros Comuns

- 1- Lâmina de extensão com a borda lascada ou áspera;
- 2- Hesitação em mover a lâmina de extensão;
- 3- Lâmina de extensão movida muito rapidamente;

- 4- Gota de sangue insuficiente;
- 5- Gota de sangue não espalhada adequadamente na lâmina de extensão;
- 6- Sujeira ou gordura na lâmina, podendo ser causada por taxa elevada de lipídeos na amostra;
- 7- Pressão desigual na lâmina de extensão;
- 8- Demora na confecção da lâmina, o sangue começa a secar.

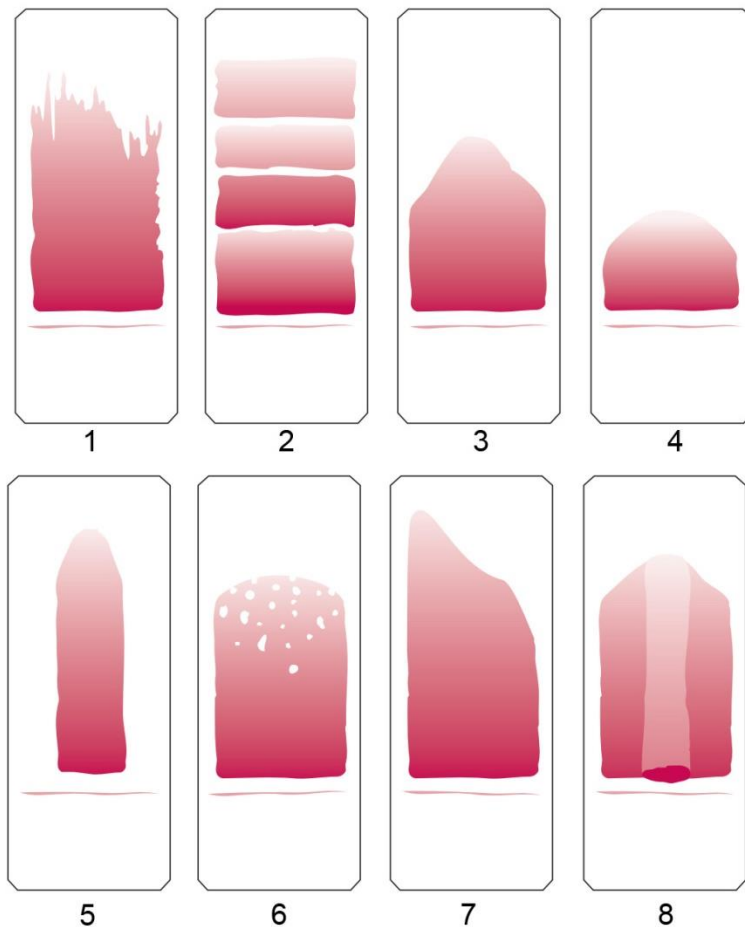


Figura 4: Erros comuns na confecção de uma lâmina de esfregaço sanguíneo. Fonte: *Clinical Hematology Atlas* 5 ed. Elsevier.

2.3- Local de contagem

A distensão sanguínea pode ser dividida em três regiões, cabeça cauda e corpo (figura 5).

A cabeça é a região imediatamente após o local em que estava a gota sanguínea. Nessa região, com frequência, há aumento do número de

leucócitos (principalmente maior número de linfócitos). A cauda é a região final da distensão sanguínea. Nessa região, há encontro de alguns esferócitos e elevação de monócitos e granulócitos, que podem apresentar maior distorção morfológica. O corpo é a região intermediária entre cabeça e cauda. É nessa região que os leucócitos, hemácias e plaquetas estão distribuídas de forma mais homogênea. É a área de escolha para a análise qualitativa e quantitativa da distensão sanguínea.

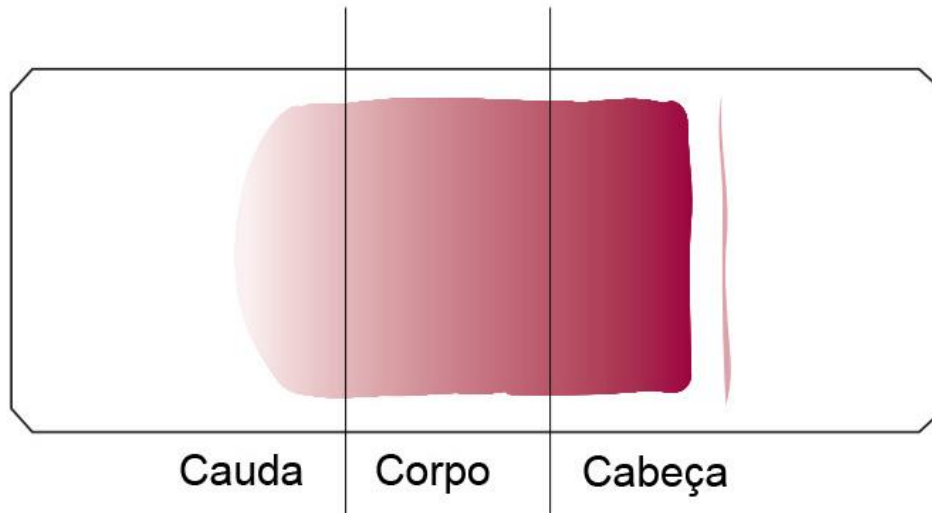


Figura 5: distensão sanguínea. Fonte: *Clinical Hematology Atlas* 5 ed. Elsevier

2.4- Observação

Uma extensão sanguínea bem feita tem as seguintes características:

- 2/3 ou 3/4 da lâmina coberta pelo filme;
- A extensão deve ser levemente arredondada na cauda;
- As bordas laterais do filme devem ser visíveis;
- Filme uniforme e sem irregularidades, buracos ou listras;
- Quando a lâmina é segurada contra a luz, a ponta da cauda deve ter uma aparência de "arco-íris";
- Toda a gota de sangue foi usada e espalhada.

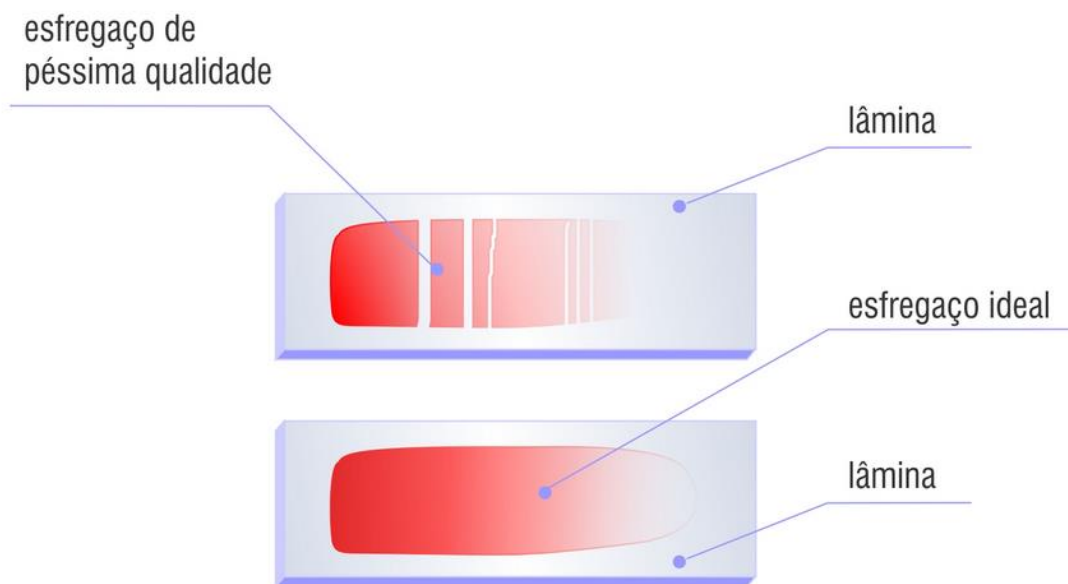


Figura 6: Comparação entre lâminas de esfregaço. Fonte: *Clinical Hematology Atlas* 5 ed.

3- COLORAÇÃO

3.1- Tipos de Coloração:

Para que a lâmina seja, por fim, visualizada ao microscópio, ela deve ser corada com uma mistura especial de corantes que tingem todas as células sanguíneas. O azul de metileno é um corante básico que reage com componentes ácidos de células e tecidos e coram estruturas azuladas que são chamadas **basófilas**. Este corante tingem núcleos, RNA ribossômico e a heterocromatina. A eosina é um corante ácido que reage com componentes básicos das células e dos tecidos, denominando estruturas coradas em rosa de **acidófilas**, corando o citoplasma das células, hemácias e grânulos de eosinófilos.

Os corantes Romanowsky são misturas dos corantes eosina e azul de metileno preparadas por diversos autores: Leishman, Giemsa, Wright e May-Grunwald. São as chamadas colorações pancrômicas porque envolvem todo um processo de fixação do material na lâmina, a coloração e a lavagem do excedente de corante. Esse processo é demorado e relativamente mais caro porém possuem maior qualidade de resultados.

Colorações do tipo panótico rápido são feitas na imersão da lâmina de extensão sanguínea por 10 segundos em cada um dos três componentes da coloração: o azul de metileno, a eosina e o álcool. Além de ser um processo mais barato e mais rápido, o custo dessas colorações é bem mais baixo que colorações pancrômicas, tendo em contrapartida a qualidade inferior em relação aos Romanowsky.

3.2- Processo de coloração:

Neste tópico será demonstrada como é o processo de coloração utilizando o corante de Leishman, ilustrado pela Figura 7 :

- 1- Separar esfregaços sanguíneos secos em uma bandeja de apoio;
- 2- Depositar o corante de Leishman não diluído sobre as lâminas, sem transbordar, e deixar permanecer por 3 minutos para que haja a fixação do corante na extensão sanguínea;
- 3- Após o tempo de 3 minutos, deve ser adicionada água sobre o corante depositado, sem transbordar, para que este seja diluído sem imprecisões e deixar agir por mais 3 minutos;
- 4- Após 3 minutos, realizar a lavagem das lâminas com cuidado, posicionando a mão sob a corrente de água e deixando o líquido escorrer pela lâmina cuidadosamente para que o esfregaço não se desfaça;
- 5- Deixar as lâminas secarem em ar ambiente;
- 6- Realizar a leitura da lâmina no microscópio.

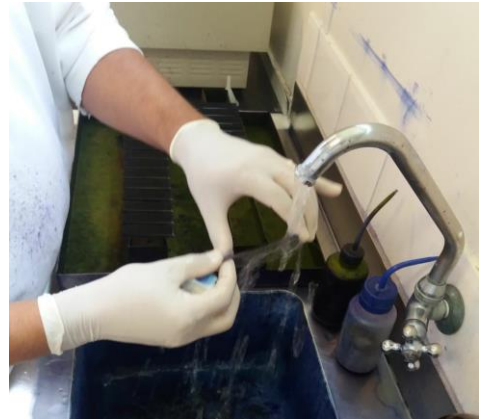
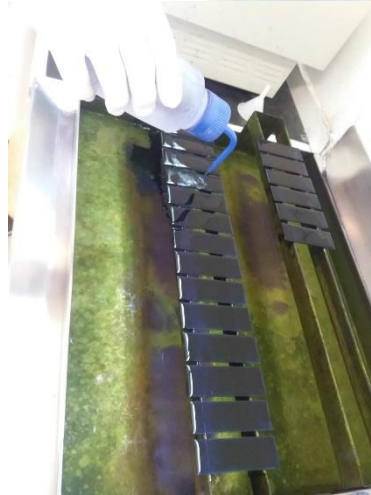
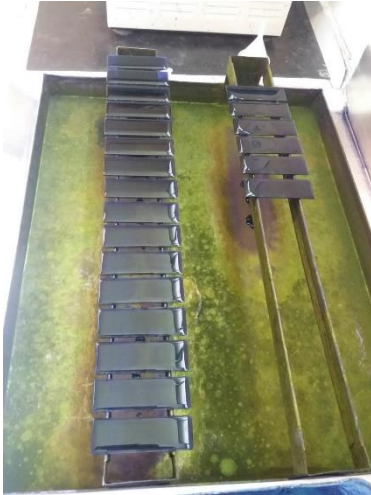
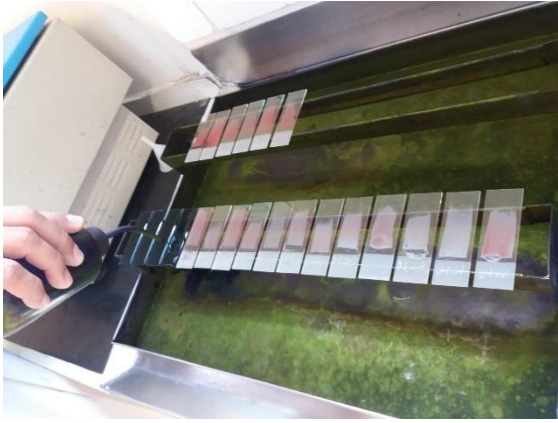


Figura 7: Processo de coloração utilizando o corante Leishman. Fonte: Laboratório Rômulo Rocha, 2018.