



Caderno Técnico

Ano II nº 003 - Dezembro de 2016

COLETA E REMESSA DE AMOSTRAS PARA DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO

Deborah Cristina Fogaça (CRMV - GO 7097)¹

Cairo Henrique Sousa de Oliveira (CRMV - GO 7430)²

Maria Auxiliadora Andrade (CRMV - GO 0227)²

¹Residente, Setor de Medicina Veterinária Preventiva, DMV, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO

²Docente, Setor de Medicina Veterinária Preventiva, DMV, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO

RESUMO

A realização de um diagnóstico laboratorial depende de uma suspeita clínica fundamentada, da qualidade da amostra coletada e da forma como esta foi acondicionada e transportada ao laboratório. A ficha de requisição de exames deve estar preenchida corretamente e o material acondicionado de acordo com a recomendação para cada tipo de amostra. Sendo assim, este informe tem por obje-

tivo esclarecer os procedimentos adequados básicos para a coleta de materiais destinados à análise bacteriológica e discorrer sobre as particularidades dos principais tipos de amostras submetidas a esse tipo de análise.

Palavras-chave: bacteriologia, medicina veterinária, requisição de exames, acondicionamento, laboratório.

INTRODUÇÃO

O sucesso do cultivo bacteriológico depende de diversos fatores inerentes a qualquer diagnóstico laboratorial, principalmente aqueles relacionados à coleta e a conservação das amostras. A obtenção de amostras biológicas de boa qualidade e a interpretação adequada dos exames laboratoriais são fatores determinantes para a confirmação do diagnóstico de várias doenças dos animais, além de contribuir para o estabelecimento do prognóstico e auxiliar no acompanhamento terapêutico.

Os resultados dos exames laboratoriais refletem a qualidade da amostra enviada para análise. Dentre os fatores que podem interferir nos resultados, aproximadamente 70% são pré-analíticos, ou seja, ligados à coleta, acondicionamento e envio da amostra¹.

Durante a coleta de material biológico, existe risco de exposição

a agentes potencialmente causadores de doenças ao ser humano, por essa razão o profissional deve estar sempre atento ao uso de equipamentos de proteção individual (EPI's). A coleta deve ser realizada de modo a evitar a contaminação com produtos e outros microrganismos presentes no ambiente ou no animal. Dessa forma, o material de coleta e demais instrumentais a serem utilizados devem estar esterilizados. Amostras contaminadas por microrganismos que não estão envolvidos na etiologia da doença comprometem a realização do exame e a interpretação dos resultados².

Diante das considerações explanadas, este informe técnico tem por objetivo fazer as recomendações adequadas de coleta, acondicionamento e envio ao laboratório para cada tipo de amostra destinada ao diagnóstico bacteriológico.

COLETA E ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS

A qualidade da amostra pressupõe adequação aos protocolos de coleta e transporte do material com a finalidade de obter, identificar e transportar as mesmas, preservando sua viabilidade a fim de garantir resultados adequados na fase analítica do processo. Assim, a fase pré-analítica tem início na coleta do material. A gestão desses processos pré-analíticos garante a precisão dos resultados na fase analítica, ou seja, na realização da técnica de análise.

A definição do material a ser coletado cabe ao clínico responsável e depende principalmente da suspeita clínica, histórico e do tipo de exame a ser realizado. A quantidade do material a ser coletado deve ser suficiente para permitir uma análise microbiológica completa, sendo definida de acordo com o tipo de amostra. Sempre que possível, deve-se realizar a coleta antes da antibioticoterapia, a fim de evitar o comprometimento dos resultados.

O profissional responsável pela coleta deve estar ciente da importância da antisepsia no momento da obtenção da amostra e de todos os materiais utilizados, além de possuir conhecimento so-

bre a técnica mais adequada. Por isso é essencial que se tenha uma boa comunicação com o laboratório de destino, a fim de receber a orientação correta para cada tipo de exame e garantir o envio de uma amostra de boa qualidade.

O acondicionamento é uma etapa fundamental para a manutenção da qualidade das amostras. Cada material biológico deve ser acondicionado conforme o tipo de exame solicitado. Para a maioria dos exames laboratoriais, o acondicionamento sobre refrigeração entre 2 e 8°C é ideal³. Para alguns exames as amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente, já que a refrigeração ou congelamento pode provocar alterações indesejáveis e inviabilizar a realização do exame. Vale ressaltar que para a realização de alguns exames é necessário que o material seja protegido da luz.

O material acondicionado de maneira inadequada pode resultar em deterioração do mesmo (impedindo a realização do exame), resultados duvidosos, quebra ou vazamento do material, rotulagem e requisições ilegíveis, dentre outros.

IDENTIFICAÇÃO E REMESSA DAS AMOSTRAS

Os frascos e embalagens contendo as amostras devem ser corretamente identificados com etiquetas resistentes e informações legíveis. Não deverão ser utilizadas canetas para retroprojeter ou similares. A identificação não deverá estar na tampa e sim no recipiente. O formulário de solicitação de exames deve estar fixado no lado externo da caixa em que se transportará as amostras, além do rótulo de risco biológico, quando necessário².

Todas as amostras encaminhadas para realização de exames devem estar acompanhadas do formulário de solicitação de exames (Figura 1), o qual é disponibilizado pelo laboratório; este poderá rejeitar amostras com formulários

incompletos ou preenchidos de forma incorreta, os quais podem comprometer o laudo diagnóstico.

No formulário, devem ser preenchidos os dados referentes à espécie animal, tipo e quantidade das amostras, conservação das mesmas, data da coleta, modo de transporte, suspeita clínica e exames solicitados, além de dados do proprietário e veterinário responsável.

A forma de conservação depende do tipo de amostra e dos exames requeridos. As amostras deverão ser remetidas em condições de biossegurança desde o transporte até a chegada ao laboratório de destino, preferencialmente em um sistema de embalagem tripla².

FIGURA 1. Modelo de formulário de solicitação de exames empregado pelo Setor de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Fonte: <https://evz.ufg.br/p/13289-medicinaveterinaria-preventiva>

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
SETOR DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA
FOLHA PARA SOLICITAÇÃO DE EXAMES

DADOS DO PROPRIETÁRIO
Nome: _____
Endereço: _____
Cidade: _____ Estado: _____
Telefone: _____
E-mail: _____

DADOS DO ANIMAL
Espécie: _____ Raça: _____
Idade: _____ Sexo: _____
Número de identificação: _____
Data de nascimento: _____

DADOS DA PROPRIEDADE
Nome: _____
Endereço: _____
Cidade: _____ Estado: _____
Tipo de exploração: _____

DADOS DA AMOSTRA
Localização: _____
Data de coleta: _____ Método de coleta: _____
Tipo de amostra: _____
Tipo de embalagem: _____
Tempo de conservação: _____

Amostras solicitadas	Quantidade	Observações
Exame bacteriológico		
Exame parasitológico		
Exame de cultura de bactérias		
Exame de cultura de fungos		
Exame de cultura de vírus		
Exame de cultura de protozoários		
Exame de cultura de helmintos		
Exame de cultura de artrópodos		
Exame de cultura de moluscos		
Exame de cultura de nematelmintos		
Exame de cultura de cestelmintos		
Exame de cultura de trematódeos		
Exame de cultura de acantocefalos		
Exame de cultura de ciliados		
Exame de cultura de flagelados		
Exame de cultura de amebas		
Exame de cultura de microrganismos		
Exame de cultura de outros		

Universidade Federal de Goiás - UFPA - Campus Goiânia
Av. Esperança, s/n, Campus Universitário
74061-900 - Goiânia, Goiás, Brasil

Telefone: (62) 3227-1000
www.ufg.br

AMOSTRAS PARA ANÁLISE BACTERIOLÓGICA

Em bacteriologia o material coletado deve ser representativo do processo infeccioso suspeito. Para realização da coleta de material para análise bacteriológica é importante observar alguns pontos: o material deve ser coletado do local onde haja maior probabilidade de se isolar o microrganismo; coletar quantidade suficiente de material para uma análise completa; utilizar frascos adequados para cada tipo de material enviado e anotar o horário de coleta para permitir o controle de qualidade e análise da viabilidade da amostra³.

Aspirados de abscesso, material de biópsia, líquor, urina, sangue e aspirado profundo de feridas abertas devem ser obtidos após descontaminação da pele, sendo que o material coletado por suabe não é o ideal nessas situações³.

A coleta para cultura de bactérias anaeróbias deve seguir critérios rigorosos, pois a maioria desses microrganismos não sobrevive à exposição ao oxigênio por mais de 20 minutos. Deve-se evitar a contaminação com a microbiota normal endógena e sempre que possível coletar a amostra por meio de aspirado

com agulha e seringa ou coletar fragmentos do tecido infectado, sendo que o material aspirado deve ser precedido da eliminação do ar residual. É recomendado a realização de cultura para aeróbios e método de Gram, uma vez que a maioria das infecções por anaeróbios é mista³.

SANGUE

O procedimento de coleta para hemocultura é crítico e deve ser realizado utilizando procedimentos assépticos. A antisepsia adequada da pele é fundamental no processo de coleta, para evitar a probabilidade de contaminação da amostra. A coleta do sangue deve ser feita por meio de punção venosa, com material adequado (Figura 2): frasco de hemocultura, material para a punção, antisséptico e identificação adequada do paciente. O volume ideal corresponde a 10% do volume total do frasco de coleta (5 a 10 mL em cães de grande porte e animais de produção e 1 mL em cães de pequeno porte ou gatos). O conteúdo deve ser transferido para tubos ou frascos esterilizados e remetido sob refrigeração, preferencialmente em até 24 horas após a coleta³.

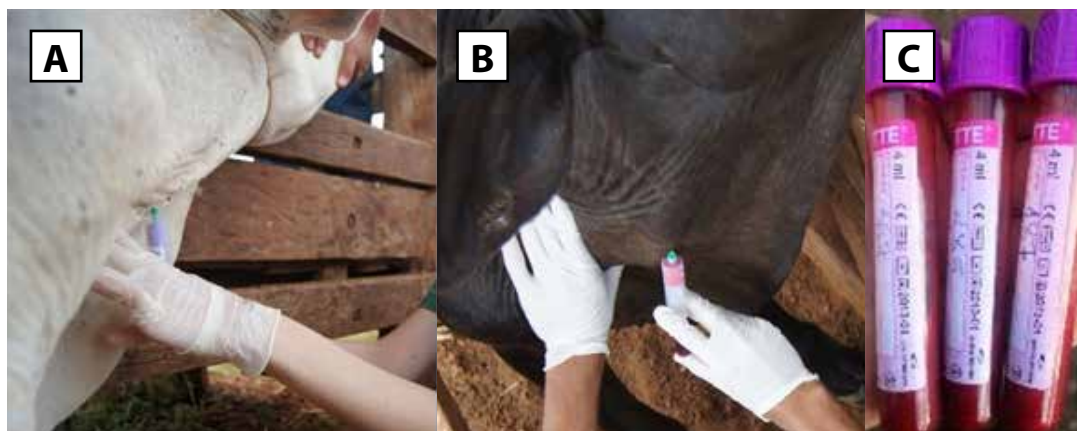


FIGURA 2. A) e B) Coleta de sangue em veia jugular de bovino. C) Frasco com anticoagulante para coleta de sangue.

EXSUDATO (SECREÇÕES)

A coleta é feita de acordo com o tipo de lesão e a região afetada, podendo-se utilizar seringa e agulha (Figura 3) ou suabes estéreis. Se o exsudato for coletado por punção, deve-se realizar a antissepsia da superfície da lesão e região ao redor da mesma com álcool iodado ou povidone iodo. O conteúdo da seringa deve

ser transferido para tubos ou frascos esterilizados, ou pode-se retirar a agulha e fazer a flambagem da mesma. A cultura de lesões secas e crostas não é recomendada⁴.

O material deve ser acondicionado individualmente em tubos e remetidos sob refrigeração, preferencialmente em até 24 horas após a coleta.



FIGURA 3. A) e B) Coleta de abscesso em bovinos por meio de aspiração com agulha e seringa esterilizados. C) Material coletado por meio de aspiração pulmonar de bovino com quadro de doença respiratória.

SECREÇÃO AURICULAR

Inicialmente deve ser realizada a limpeza na parte externa do ouvido com gaze esterilizada levemente umedecida com solução salina. No momento da coleta, deve-se evitar tocar as partes externas do ouvido, e a amostra deve ser coletada na parte mais profunda da orelha. O suabe deve ser enviado em meio de transporte (meio de Stuart), com identificação⁵.

LEITE

As amostras de leite coletadas diretamente do úbere devem conter a identificação do quarto mamário. No pré-dipping é realizada a imersão dos tetos em solução desinfetante, usando uma solução que não seja irritante para a pele, como por exemplo o cloro na concentração de 0,85 a 1,25⁶. Os três primeiros jatos de

leite devem ser desprezados antes da coleta (Figura 4). A antissepsia dos orifícios dos tetos deve ser feita com gaze esterilizada e álcool 70%, certificando-se de secar bem o úbere e os tetos, iniciando pelos quartos mais distantes em relação ao operador e depois o restante dos quartos mamários, para evitar que ocorra contaminação durante a limpeza².

Deve-se coletar aproximadamente 10 mL de leite em frascos ou tubos esterilizados (Figura 5), diretamente do animal ou do tanque de armazenamento. É ideal que o tubo permaneça aberto o menor tempo possível durante a coleta, e as amostras devem ser enviadas sob refrigeração, preferencialmente em até 24 horas após a coleta ou congeladas se enviadas após 48 horas².



FIGURA 4. A) Realização do pré-dipping com solução desinfetante. B) Primeiros jatos de leite sendo desprezados. C) Antissepsia do orifício do teto com álcool 70%. D) Coleta de amostra em tubo esterilizado, na posição inclinado ou horizontal.



FIGURA 5. Exemplos de frascos esterilizados utilizados para coleta de leite.

URINA

A amostra pode ser obtida por meio de micção espontânea, micção induzida, punção vesical ou mediante cateterismo uretral em fêmeas. Antes da coleta, higienizar a região da vulva ou prepúcio e coletar o jato intermediário da urina com coletor universal ou frasco esterilizado, em uma quantidade mínima de 10 mL (Figura 6). A amostra deve ser enviada ao laboratório sob refrigeração até cinco horas ou em até o máximo de uma hora em temperatura ambiente, ao abrigo da luz⁵.



FIGURA 6. Amostra de urina coletada em seringa esterilizada e acondicionada em coletor universal.

CONTEÚDO ARTICULAR

Para a coleta de conteúdo articular, o animal deve estar sob sedação e deve-se fazer a tricotomia e desinfecção da região a ser puncionada. A punção da articulação acometida é realizada utilizando seringa e agulha, coletando o mínimo de 1,5 mL. Posteriormente parte da amostra é colocada em tubo sem anticoagulante e outra parte em tubo com anticoagulante (Figura 7), para pesquisa direta de agente, refrigerada e enviada ao laboratório em até 24 horas⁵.

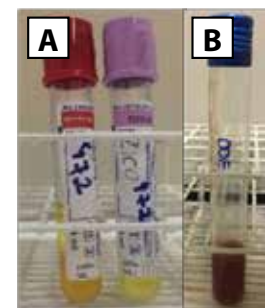


FIGURA 7. A) Amostras de conteúdo articular de equino, acondicionadas em tubos esterilizados, com e sem anticoagulante. B) Amostra de conteúdo articular de cão acondicionada em tubo esterilizado.

LÍQUOR

O líquido cefalorraquidiano deve ser preferencialmente coletado por gotejamento ou aspiração lenta. É recomendado a coleta em 2 a 3 tubos estéreis e um volume total entre 6 e 12 mL¹. Não enviar a amostra em seringa. Refrigerar na temperatura de 2 a 8 °C até o momento da análise. A estabilidade da amostra é de até 3 horas em temperatura ambiente⁷.

PELE

Pode-se realizar um raspado de pele profundo ou fazer um suabe e colocar em meio de Stuart. O raspado deve ser profundo e realizado na periferia da área lesionada quando estas forem descamativas, coletando o material nas áreas mais extensas das lesões com lâmina de bisturi. O material obtido deve ser acondicionado sob refrigeração em frascos esterilizados, bem vedados, identificados separadamente e enviados ao laboratório em até 24 horas. Não realizar a coleta utilizando óleo mineral³.

FEZES

As amostras devem ser coletadas na fase aguda da doença, quando os patógenos estão usualmente presentes em maior número. Coletar aproximadamente 20 g de fezes e colocar em um coletor universal (Figura 8). Se a amostra não puder ser enviada em até 2 horas após a coleta, manter sob refrigeração por um período máximo de 12 horas³.



FIGURA 8. Amostras de fezes de bovino, acondicionadas em coletor universal.

ÓRGÃOS

Os fragmentos de órgãos devem ser coletados de forma asséptica, durante a necropsia, a fim de evitar interferência no isolamento do agente etiológico e não devem estar em estado de autólise (Figura 09). As amostras devem ser enviadas em embalagens esterilizadas e sob refrigeração (2-8 °C), em até 24 horas⁸.

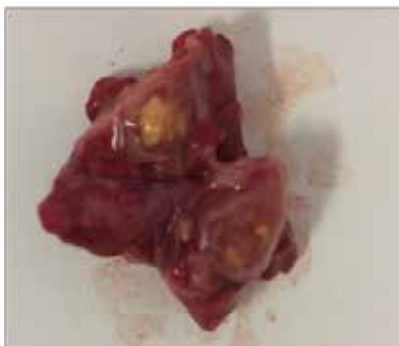


FIGURA 9. Amostra de lesão com aspecto caseoso no pulmão de uma vaca com tuberculose.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido ao avanço das técnicas de diagnóstico laboratorial disponíveis nas diversas áreas do conhecimento da Medicina Veterinária, o procedimento de coleta de material requer atenção especial. É fundamental a realização de testes laboratoriais eficazes com o objetivo de complementar o diagnóstico clínico com rapidez e precisão. A opção por um método de exame laboratorial com elevado grau de sensibilidade e especificidade garante a idoneidade do resultado.

Para que o laudo emitido traduza o mais fielmente possível a realidade apresentada, é preciso que o procedimento de coleta, armazenamento e remessa ao laboratório obedeça a uma série de processos e técnicas, as quais normalmente são informadas pelo laboratório que irá processar o material. O clínico pode entrar em contato com o laboratório para verificar o procedimento mais adequado. É de extrema importância que, antes de coletar, o clínico tenha conhecimento de qual tipo de exame deseja solicitar, o que pretende identificar o tipo de amostra e a forma como a coleta será realizada, além de preencher corretamente e anexar junto ao espécime uma ficha contendo a suspeita e o histórico epidemiológico do animal. O acondicionamento e as condições de envio adequadas estão diretamente correlacionados com o resultado final da análise, pois se realizados de maneira inadequada pode-se até mesmo inviabilizar a realização do exame solicitado.

Em suma, a realização adequada dos procedimentos de coleta, armazenamento e transporte de amostras biológicas garante uma análise com maior precisão e pode auxiliar o estabelecimento correto de um protocolo terapêutico. Porém, além da responsabilidade dos profissionais em ter conhecimento sobre as técnicas adequadas, os laboratórios também devem atuar juntamente com os médicos veterinários compartilhando as informações necessárias.

REFERÊNCIAS

- ANDRIOLO A. et al. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial – SBPC/ML. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): coleta e preparo da amostra biológica. Barueri - SP. Manole: Minha Editora, 2014. Disponível em: www.sbp.org.br. ISBN 978-85-786-8139-5
- CENCI A. et al. Manual de Coleta e Remessa de Amostras para Diagnóstico Laboratorial Veterinário. Porto Alegre: FEPAGRO, 2011. Boletim Técnico, n. 20. Disponível em: <https://issuu.com/fepagro>. ISSN 0104-9089
- FÓSCOLO C.B.; BARROS P.P. Manual de coleta. Instituto Hermes Pardini; Belo Horizonte, MG: Parque Gráfico IHP, 2007. Disponível em: <http://www.hermesparini.com.br>.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica. Brasília: Anvisa, 2013. Disponível em: <http://www20.anvisa.gov.br>.
- BRASIL. Manual veterinário de colheita e envio de amostras: manual técnico. Cooperação Técnica MAPA/OPAS/PANAFTOSA para o Fortalecimento dos Programas de Saúde Animal do Brasil. Rio de Janeiro, RJ: PANAFTOSA - OPAS/OMS, 2010. Disponível em: www.biologico.agricultura.sp.gov.br.
- SILVA M.V.M.; NOGUEIRA J.L. Mastite: controle e profilaxia no rebanho bovino. Rev. Cient. Eletrônica Med. Vet. Ano VIII; n° 15 [jul 2010]. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br>. ISSN: 1679-7353
- FINOTTI A. et al. Manual de procedimentos: Coleta, acondicionamento e transporte de amostras biológicas - LACEN. Goiânia, GO: 2010. Disponível em: <http://www.sgc.goias.gov.br>.
- HOERICH P.K.; ZUFFO J.P.; BACK A.; PEREIRA R.A. AVES: Guia de coleta e envio de materiais para o diagnóstico laboratorial. 2ª ed, 2009, 197 p.