

MANUAL DE COLETA E TRANSPORTE DE AMOSTRA PARA EXAMES VETERINÁRIOS

1 – Apresentação

As análises laboratoriais tornaram-se um aliado do(a) Médico(a) Veterinário(a), principalmente daquele(a) que exerce atividade clínica. Atualmente, além de uma necessidade técnica, esses exames constituem uma ferramenta importante como meio comprobatório dos procedimentos adotados pelo profissional, tanto para o diagnóstico, quanto para o prognóstico e acompanhamento terapêutico.

Os exames laboratoriais envolvem três fases: pré-analítica, analítica e pósanalítica. Desta forma a obtenção de amostras biológicas de boa qualidade e a adequada interpretação dos exames são procedimentos determinantes para a confirmação do diagnóstico das diversas enfermidades e patologias dos animais.

A fase pré-analítica concentra o maior número (70%) de falhas relacionadas ao resultado final. Nesta etapa inclui:

- Pedido do exame:
- Preparação do paciente;
- Coleta;
- Transporte.

A fase analítica envolve o laboratório, em toda sua prática, no que se diz:

- Análise do material:
- Fluxo de dados.

A fase pós-analítica tem grande importância, pois inclui:

- Interpretação médica;
- Diagnóstico e tratamento.

Este manual tem como objetivo aprimorar a qualidade da amostra colhida e assegurar sua correta conservação e envio, garantindo maior confiabilidade aos resultados dos exames.

2 - Preparo do material para coleta

- Verificar o tipo de frasco a ser utilizado e tipo de anticoagulante, se necessário;
- O ideal é o animal estar em jejum por 12 horas, para evitar que estas amostras apresentem lipemia, podendo causar hemólise e alterar os resultados dos exames:

- Informar o uso de medicamentos;
- Homogeneizar de forma correta e não agitar excessivamente a amostra;
- Não deixar o material em temperatura ambiente por muito tempo ou em altas temperaturas ou congelar.

3 – Preenchimento da requisição e identificação do material

A identificação do material a ser enviado ao laboratório é um passo muito importante para o bom andamento da rotina laboratorial. Os frascos devem estar rotulados com a correta identificação do animal. A requisição deve estar protegida do restante do material, para evitar borrões ou desaparecimento da escrita por possíveis vazamentos de amostra biológica. As informações fundamentais para a realização do exame são:

- Nome do animal;
- Espécie;
- Raça do animal;
- Idade do animal;
- Sexo do animal;
- Suspeita clínica;
- Medicação, se utilizado;
- Exames solicitados:
- Nome e CRMV do Médico Veterinário;
- E-mail e telefone do Médico Veterinário.

4 - Acondicionamento e envio da amostra biológica

Para a maioria dos exames laboratoriais o acondicionamento ideal se dá em refrigeração entre 2o e 8 °C. Para alguns exames como o de bilirrubina e dosagem de vitaminas, é necessário que o material biológico seja protegido da luz (frasco âmbar, papel alumínio ou carbono). O acondicionamento inapropriado pode resultar em deterioração do material biológico (impedindo a realização do exame), resultado alterado, quebra ou vazamento do material, rótulos molhados e ilegíveis, requisições ilegíveis e molhadas (quando enviadas junto com o material).

5 - Retirada e recebimento das amostras

O AnimalesLab oferece a retirada do material nas Clínicas Veterinárias, como também pode ser feita diretamente no laboratório, no endereço:

Rua Padre João José, 142-A – Centro – Guaxupé/MG – CEP 37800-000

6 - Resultados

- Disponível no site com acesso por senha eletrônica do Médico Veterinário;
- Via balcão de atendimento;
- Por e-mail.

7 - Coleta de exames

7.1 Hematologia

- É importante observar a proporção entre a quantidade de sangue e anticoagulante, pois o excesso de anticoagulante distorce as células e dilui o sangue e a sua falta provoca coágulos. Portanto, o tubo deve ser preenchido com sangue até a marca indicativa;
- O ideal é coletar um volume de 3 a 5 ml de sangue com anticoagulante EDTA.
 Se não for possível, utilizar os tubos com marca de 1 ou 2ml de sangue, com anticoagulante EDTA;
- Para aves coletar a quantidade de sangue referente a 1% do peso corporal, utilizando como anticoagulante a heparina;
- Retirar a agulha antes de transferir o sangue para o tubo, deixando escorrer pela parede do tubo, para evitar hemólise;
- Inverter o tubo por 30 segundos, com movimentos suaves, logo após a coleta, para evitar a formação de coágulos. Evitar agitação grosseira do tubo, pois este processo pode provocar hemólise;
- A coleta deve ser a mais rápida e limpa possível, para evitar a formação de coágulos, pois a presença de coágulos diminui o volume globular e o número de plaquetas;
- A amostra pode ser conservada em temperatura ambiente por 12 hs ou 24 hs sob refrigeração (2 a 8 °C). Neste caso faz-se necessário o envio de pelo menos

- dois esfregaços sanguíneo s em lâminas de vidro, não coradas, secas ao ar e enviadas ao Laboratório em temperatura ambiente;
- Após 24 hs (sob refrigeração) a amostra é considerada inadequada para a análise.

7.2 Pesquisa de Hematozoários

- A pesquisa de Hemoparasitos pode ser realizada através de esfregaços finos de sangue, preferencialmente fixados em metanol;
- Selecionar um ponto para coleta em extremidades como orelha ou cauda;
- Coletar a primeira gota extravasada após a perfuração da pele com agulha estéril ou após corte superficial com lâmina de bisturi;
- Estender a gota de sangue sobre uma lâmina de vidro com auxílio de uma lâmina extensora, deixando o esfregaço secar naturalmente antes da fixação com metanol;
- Adicionalmente, coletar uma pequena quantidade de sangue com EDTA (tampa roxa);
- Identificar adequadamente todo o material;
- Não refrigerar as lâminas;
- Se as amostras de sangue (com EDTA) não forem encaminhadas ao Laboratório para análise em 2 a 3 horas após a coleta, estas deverão ser refrigeradas de 2 a 8°C até o momento do envio ao Laboratório, em até 24 hs;
- Não congelar as amostras de sangue.

7.3 Bioquímica

- Colher por punção venosa 2 a 5 mL de sangue, respeitando o porte do animal;
- Retirar a agulha e transferir o material para um tubo com ativador de coágulo (gel – tampa amarela) ou tubo seco (tampa vermelha);
- Manter a amostra sob refrigeração (2 a 8 °C) e enviar ao laboratório imediatamente em até 24 hs após a coleta;
- Para dosagens de glicose e ácido lático, utilizar tubo com fluoreto (tampa cinza);
- Nos casos em que a amostra não puder ser encaminhada no mesmo dia ao Laboratório, aguardar a coagulação da amostra em temperatura ambiente, centrifugar e transferir o soro ou plasma para um tubo seco ou tipo eppendorf, identificar e congelar.

7.4 Urinálise

- Identificar a forma de coleta (cistocentese, sondagem uretral ou micção espontânea);
- Colher no mínimo 5 mL de urina e manter em refrigeração (2 a 8 °C) imediatamente após a coleta, até o momento de entrega ao laboratório;
- O ideal é analisar a amostra 30 minutos após a coleta para evitar artefatos póscolheita e alterações degenerativas;
- A estabilidade da amostra é de 6 a 12 hs se refrigerado. Em temperatura ambiente a estabilidade é de apenas 1 hora.

7.5 Parasitologia

- Coletar no mínimo 3 gramas de fezes frescas, não expostas ao sol (para animais de grande porte coletar preferencialmente direto do reto) em um recipiente limpo e a seguir transferi-las para o coletor universal;
- Se as fezes estiverem liquefeitas, pelo menos 10 ml deverão ser fornecidos ao laboratório para análise;
- Não se recomenda o uso de laxantes e o animal não deverá ter sido submetido a contrastes radiológicos nos 3 dias anteriores à coleta;
- Manter as amostras frescas refrigeradas de 2 a 8 °C até o momento de envio ao Laboratório, sem exceder 12 horas;
- Não congelar as amostras.

7.6 Endocrinologia

- A maior parte das análises hormonais requer soro, porém algumas análises requerem sangue total com anticoagulante específico ou plasma. Antes da colheita, sugere-se consultar o AnimalesLab, para evitar recoleta por tubo incorreto;
- Realizar jejum mínimo de 6 a 12 horas para evitar a lipemia. Em animais muito jovens ou debilitados o jejum poderá ser diminuído para 1 a 2 horas;
- Antes de iniciar a punção, deixar o álcool usado na antissepsia secar;
- Evitar usar agulhas de menor calibre; usar este tipo de material somente quando a veia do animal for fina, ou em casos especiais;
- Evitar colher sangue de área com hematoma ou equimose;

- Coletar de 3 ml a 5 ml de sangue. Tubos com volume insuficiente ou com excesso de sangue alteram a proporção correta de sangue/anticoagulante, podendo levar a hemólise e resultados incorretos;
- Verificar se a agulha está bem adaptada à seringa para evitar a formação de espuma. Não puxar o êmbolo da seringa com muita força;
- Descartar a agulha, passar o sangue deslizando cuidadosamente pela parede do tubo. N\u00e3o espetar a agulha no tubo para transfer\u00eancia do sangue da seringa para o tubo;
- Para amostras coletadas com anticoagulante, homogeneizar a amostra suavemente por inversão de 4 a 8 vezes e não chacoalhar o tubo;
- Após a coleta de amostras em tubos sem anticoagulante, mantê-las em temperatura ambiente por 20-30 min para permitir a formação e retração do coágulo;
- Caso as amostras com ou sem anticoagulante não puderem ser encaminhadas ao laboratório entre 2 a 3 horas após a coleta, estas deverão ser refrigeradas de 2°C a 8°C até o momento da entrega ao Laboratório.

7.7 Fungos

- As amostras devem ser coletadas assepticamente, acondicionadas em coletores estéreis e mantidas à temperatura ambiente;
- Em caso de uso de antifúngicos, aguardar 15 dias para realizar a coleta em tratamento tópico e 30 dias para tratamento via oral. Para uso de pomadas ou cremes deve-se lavar o local e realizar a coleta no dia seguinte;
- Não coletar a amostra após banho do animal;
- Para um bom diagnóstico laboratorial, a coleta adequada da amostra é fundamental. É importante observar que a coleta para o exame micológico é diferente da realizada para o exame parasitológico de pele;
- A amostra deve consistir de raspados limpos de escamas dérmicas, de pelos ou segmentos de pelos quebradiços e não de tufos emaranhados e cheios de crostas, colhidos sem limpeza prévia:
 - A área lesionada deve ser higienizada com água e sabão neutro, o excesso de pelos deve ser cortado e a região deve ser desinfetada com álcool 70 %. Os pelos devem ser coletados das bordas da lesão (com auxílio de pinças ou por avulsão do pelame).

- O material obtido deve ser conservado em temperatura ambiente até ser encaminhado ao laboratório.
- A solicitação veterinária deve conter os sinais ou sintomas que motivaram o exame micológico, como perda de pelos localizada ou disseminada, descamações, crostas, e uso ou não de medicações antifúngicas, locais ou sistêmicas.
- Pelos: Coletar com a raiz, preferencialmente da borda da lesão e acondicionados entre duas lâminas de vidro, lacrando todas as bordas da lâmina com esparadrapo ou enrolando as lâminas em filme de PVC, I ou acondicionar os pelos e crostas em um envelope de papel novo ou frasco estéril;
- Raspado de Pele: Incluir crostas e a escarificação da pele. Utilizar lâmina de bisturi estéril. Após a coleta descarregue o material colhido em uma lâmina de vidro, que deve ser acoplada a outra lâmina de vidro de mesmo tamanho, lacrando todas as bordas da lâmina com esparadrapo ou enrolando as lâminas em filme de PVC. A lâmina poderá ser envolvida com papel seco e limpo para diminuir a umidade;
- Secreções: Colher o máximo de material possível com swab e colocar no meio de transporte Stuart;
- As amostras de pelo e raspado de pele poderão ser mantidas e encaminhadas ao laboratório em temperatura ambiente;
- As amostras de fragmentos de tecido devem ser refrigeradas entre 2ºC a 8ºC.

7.8 Pesquisa de Malassezia

- Limpar a região ulcerada com solução fisiológica ou com auxílio de uma gaze, retirando o excesso de sangue ou outros fluídos;
- Pressionar levemente a lesão com uma lâmina de vidro limpa e seca;
- Pele: Com auxílio de uma lâmina de bisturi realizar raspado superficial captando o material graxo da pele, transferir o material em lâmina de vidro (se necessário, utilizar swab como auxílio), acondicionar em porta lâminas em temperatura ambiente e enviar para o laboratório;
- Ouvido: Coletar o material com swab estéril e realizar transferir o material para a lâmina de vidro, girando o swab sobre a mesma. Acondicionar em porta lâminas em temperatura ambiente e enviar ao laboratório.

7.9 Pesquisa de Ectoparasitas

- Separar lâmina de bisturi, lâminas de vidros e óleo mineral;
- Em animais de pelo longo fazer uma tricotomia do local escolhido deixando os pelos com 0,5 a 1,0 cm de comprimento;
- Pingar algumas gotas de óleo (mineral ou de soja) sobre o local a ser raspado;
- Com a lâmina de bisturi raspar a lesão, especialmente as bordas, até sangrar. A lesão cutânea deve ser apertada entre o polegar e o indicador para expulsar os ácaros escavadores do folículo piloso;
- A colheita pode ser em mais de um local;
- Descarregar o material colhido em uma lâmina de vidro, que deve ser acoplada a outra lâmina de vidro de mesmo tamanho, lacrando todas as bordas da lâmina com esparadrapo ou enrolando as lâminas em filme de PVC;
- Providenciar um leve curativo ao local raspado;
- Manter as amostras em local seco e sem exposição ao sol, até o momento do envio ao Laboratório, sem exceder 24 horas;
- Não refrigerar a amostra;
- Encaminhar as lâminas em porta-lâminas ou embaladas de maneira que não quebrem durante o transporte;
- Um raspado coletado adequadamente deve conter além da escarificação de pele, pequena quantidade de sangue e pelos.

7.10 Cultura de bactérias

- Para exames microbiológicos o material coletado deve ser representativo do processo infeccioso investigado;
- As amostras devem ser coletadas assepticamente com auxílio de swab ou punção aspirativa;
- Os swabs devem ser enviados em meio de transporte Stuart em temperatura ambiente;
- Animal em antibioticoterapia deve aguardar 7 dias após suspensão do tratamento para realizar a coleta;
- Secreção Auricular: Fazer antissepsia na parte externa do ouvido com salina estéril. Se possível, utilizar álcool 70%;
- No momento da coleta, evitar tocar as partes externas do ouvido;
- Enviar o swab em meio de transporte Stuart;

- Líquidos Corporais: Limpar a parte a ser puncionada com álcool 70%e coletar a amostra;
- Transferir o coletado para um tubo estéril;
- Não enviar a amostra em seringa;
- Secreções Diversas: Fazer a antissepsia do local de coleta com álcool 70%, preferencialmente, ou salina estéril;
- Coletar a amostra com swab e enviar ao Laboratório em meio de transporte Stuart;
- **Urina:** Coletar por cistocentese;
- Manter a amostra sob refrigeração por até 6 hs. Após este período a amostra torna-se inapropriada para análise;
- Fezes: Coletar a amostra in natura, preferencialmente com muco, sangue ou pus em meio de transporte Cary-Blair;
- As fezes in natura, sem o meio de transporte, devem ser enviadas até 2 horas após a colheita ao Laboratório;
- Amostras coletadas em meio de transporte (Cary-Blair) devem permanecer refrigeradas entre 2°C a 8°C;
- Amostras para Gram: Enviar qualquer material de região suspeita de infecção por microrganismo, especificando sempre o tipo de material e o local da coleta;
- Coletar o material de forma asséptica;
- Preparar pelo menos dois esfregaços em lâminas limpas e desengorduradas, com movimentos circulares partindo do centro da lâmina homogeneamente;
- Deixar secar ao ar, e após correta fixação pelo calor brando, encaminhar em porta lâminas ao Laboratório;
- Fezes, esperma e amostras de consistência líquida (urina, efusões, etc.) devem ser mantidas e encaminhadas sob refrigeração (2°C a 8°C);
- Coleta ou transporte inadequado pode ocasionar falha no isolamento do agente etiológico e favorecer o desenvolvimento de flora contaminante, induzindo a um tratamento inapropriado.

7.11 Líquidos cavitários

- A colheita dos Líquidos cavitários se faz por punção som seringa e agulha;
- Deve-se fazer sempre uma tricotomia no local de introdução da agulha e proceder a antissepsia rigorosa;

- Acondicionar parte da amostra em tubo com EDTA (tampa roxa) e parte em tubo seco ou em seringa;
- As amostras devem ser refrigeradas em temperatura de 2 a 8 °C até o momento da análise;
- A estabilidade da amostra é de até 48 hs.

7.12 Citologia

- Realizar a aspiração usando seringa de 20 ml. Rosquear a agulha de modo a não entrar ar e então introduzir a agulha no tecido fazendo um vai e vem com esta e sentindo agulha cortar o tecido;
- Mover a agulha em diversas direções. Ao mesmo tempo desde a entrada da agulha, puxar o êmbolo até a marca de 6 a 10 ml fazendo a pressão negativa;
- Após a aspiração, remover a agulha, encher a seringa de ar e espirrar o conteúdo da agulha em uma lâmina de vidro fazendo o esfregaço com a agulha, mas sem apertar muito o material;
- Após secagem, fixar o esfregaço em Metanol;
- Não fazer esfregaços espessos;
- Na impossibilidade de confeccionar o esfregaço, enviar ao Laboratório imediatamente a amostra recém coletada.