

COLETA E TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

POR DÉBORA LISBOA, LELIA MIRANDA, LUCIANA NASCIMENTO, EVERALDO JUNIOR E FERNANDA LÍRIO

INTRODUÇÃO

A garantia de resultados confiáveis no laboratório clínico depende da minimização de erros encontrados em todas as fases do processo. A fase pré-analítica, que inclui todos os procedimentos que precedem a análise laboratorial, é onde se encontra a grande parte dos erros que interferem no diagnóstico laboratorial, como por exemplo tempo incorreto de armazenamento, incorreta relação entre sangue e anticoagulante, tubos para coleta inadequados e amostra contaminada. Para prevenir a ocorrência de falhas é importante a utilização de uma amostra adequada, devidamente identificada, obtida em quantidade suficiente e em recipiente apropriado, conservada e transportada de forma correta a manter a integridade do material a ser analisado de acordo com a metodologia utilizada. O não cumprimento das conformidades levam à rejeição da amostra ou à resultados incoerentes que não poderão ser devidamente interpretados e considerados devido a inadequação do material coletado. Você sabe quais são os cuidados necessários na fase pré analítica? Confira abaixo algumas dicas e orientações para minimizar erros pré analíticos.

COLETA DE SANGUE: TIPOS DE TUBOS DE ENSAIO

Os tubos são utilizados para a punção venosa e para o transporte das amostras. A maioria dos fabricantes utilizam um mesmo padrão de cores das tampas para identificação do aditivo contido nos tubos e para evitar a possibilidade de erros pré-analíticos. Os tubos conforme a codificação de cores e exames indicados são:

- **Tubo com citrato:** Também identificado pela cor de tampa azul, possui como aditivo um anticoagulante composto por uma solução estável de citrato de sódio a 3,2% (0,109 mol/l) adicionada em volume que mantém a relação de 1:9 entre aditivo e o sangue. Este tubo é utilizado para testes de coagulação sanguínea. Seu aditivo evita a ativação de plaquetas, estabelecendo condições ideais para os testes de PT (tempo de protrombina) e TTPA (tempo de tromboplastina parcial ativado);
- **Tubo com heparina:** Possui tampa de cor verde, contém em seu interior anticoagulante sódio ou lítio heparina em concentrações na faixa de 12,5 a 17,5UI/mL. A heparina bloqueia a ação da trombina por meio de ativação de antitrombinas, desta forma não há ativação da reação de formação de fibrina a partir do fibrinogênio, não havendo coagulação. É o tubo adequado para testes bioquímicos e enzimáticos.
- **Tubo sem reagente e tubo com ativador:** Ambos apresentam a cor vermelha em suas tampas, são utilizados para testes bioquímicos, imunológicos e sorológicos, a diferença está na descrição “Tubo sem reagente” ou “Tubo com ativador”. O Tubo com ativador possui em sua superfície interna moléculas de ativador de coagulação que estimula a liberação do fator de coagulação pelas plaquetas que desencadeiam as reações em cascata do processo de coagulação, evita a separação de fibrina e hemólise proveniente da coagulação desigual, permitindo a separação do soro sem partículas.



- Tubo com gel separador: Tubo com tampa de cor amarela que possui gel separador inerte em seu interior com densidade de 1.040/1.050. São recomendados para armazenar o soro por maior tempo para testes bioquímicos, pois após a centrifugação, a uniformidade do peso molecular do gel impede a migração de substâncias com menor peso molecular para a superfície do soro.
- Tubo com EDTA: Padronizado pela tampa de cor roxa, são tubos que contêm anticoagulante EDTA K2 ou EDTA K3. É o tipo recomendado para exames de hematologia, carga viral, genotipagem e citologia, pois protege naturalmente as células sanguíneas, principalmente as plaquetas, impedindo a agregação plaquetária e mantendo o volume e a forma da célula sanguínea por tempo prolongado.
- Tubo com fluoreto de sódio: Caracterizado pela tampa de cor cinza, contendo internamente um anticoagulante formado por uma mistura de fluoreto de sódio e EDTA. O sangue coletado é impedido de coagular devido à ação do EDTA que é quelante de cálcio. Já o fluoreto de sódio bloqueia o metabolismo da glicose ao inibir a glicose-desidrogenase. Este tubo é utilizado na coleta para análises de açúcar no sangue, de tolerância a açúcares, de anti-hemoglobina alcalina, de teste de hemólise pela sacarose e para eletroforese de hemoglobina.

ORDEM DOS TUBOS PARA A COLETA SANGUÍNEA

Além disso, ao colher o material é preciso respeitar uma ordem de coleta para cada amostra, evitando assim a contaminação cruzada com aditivos (contaminação por aditivos nos tubos subsequentes) e resultados sem confiabilidade. A sequência de tubos, quando há necessidade de coleta de vários tubos diferentes de um mesmo paciente, é recomendada com base na CLSI (*Clinical and Laboratory Standardization Institute*) e é diferenciada para tubos de vidro e tubos de plástico, visto que os tubos plásticos para soro (tampa vermelha ou amarela com gel separador) contêm ativador de coágulo em seu interior, o que pode alterar os resultados dos testes de coagulação. A sequência recomendada é:

A. Sequência de coleta para tubos **plásticos** de coleta de sangue:

1. Frascos para hemocultura;
2. Tubos com citrato (tampa azul-claro);
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 (tampa verde);
5. Tubos com EDTA (tampa roxa);
6. Tubos com fluoreto (tampa cinza).

B. Sequência de coleta para tubos de **vidro** de coleta de sangue

1. Frascos para hemocultura;
2. Tubos para soro vidro-siliconizados (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).





MANUSEIO E TRANSPORTE DA AMOSTRA DE URINA

A coleta da urina deve ser realizada em frasco limpo, seco e que impeça vazamentos. Além disso, devem ser produzidos por material que facilite a visualização da cor e aspecto da amostra. É recomendável a utilização de recipientes descartáveis pois eliminam a chances de contaminação por uma lavagem inadequada. Recipientes esterilizados são indicados para exames microbiológicos e para exames que serão realizados mais de 2 horas após a coleta, nesse caso a amostra também deve ser refrigerada entre 2 e 8°C ou ter um conservante químico adequado adicionado, como por exemplo o ácido bórico. Em nenhum caso a urina deve ser congelada, pois o congelamento degrada os elementos figurados presentes, interferindo na análise microscópica e levando a falsos dados bioquímicos.

COLETA E CONSERVAÇÃO DAS AMOSTRAS DE FEZES

A consistência das fezes não é impeditivo para a realização dos exames, as amostras podem se apresentar aquosas, liquefeitas, pastosas, amolecidas, firmes, consistentes ou petrificadas. As amostras devem ser coletadas e transportadas em frasco coletor universal de plástico limpo e seco, com tampa de rosca. Não deve haver água ou urina no material colhido, para não ocorrer contaminação, degeneração ou lise de parasitas. Em exames de pesquisa de antígenos parasitários deve-se utilizar fezes frescas.

As amostras para exames parasitológicos devem ser conservadas em temperatura ambiente até que sejam encaminhadas para a realização dos exames. Em regiões com temperaturas elevadas, acima de 35°C, é recomendável preservar o material refrigerado até o momento do envio. Em amostras não conservadas adequadamente, pode ocorrer a proliferação de bactérias e fungos, mascarando principalmente protozoários na análise microscópica. Conservantes podem ser utilizados para a fixação das amostras de fezes. Entre eles estão o formaldeído, o SAF (acetato de sódio, ácido acético e formaldeído), o MIF (mertiolato, iodo e formalina), o PVA (álcool polivinílico) e o líquido de Schaudinn. As amostras para a realização de exame de sangue oculto nas fezes devem ser encaminhadas ao laboratório no mesmo dia ou conservadas em geladeira, neste caso não se deve adicionar soluções conservantes.

Para exames de coprocultura deve-se coletar as fezes em frasco limpo e seco e mergulhar o swab nas fezes, em seguida colocar o swab em meio de transporte Cary-Blair e transportar em temperatura ambiente entre 24 e 72 horas após coleta. Outra alternativa é a coleta do swab retal, introduzindo o swab no ânus e realizar movimentos rotativos suaves, em seguida transportar a amostra em meio Cary-Blair em temperatura ambiente em até 24 horas após a coleta.



COLETA MICROBIOLÓGICA

O material deve ser colhido em melhor sítio da lesão evitando contaminação com áreas adjacentes e em quantidade suficiente para permitir uma análise microbiológica completa. Após a coleta com swab, deve-se evitar transportar o material em tubo seco estéril, levando ao ressecamento da amostra e perda da viabilidade dos micro-organismos presentes. Um exemplo de meio de cultura utilizado para transporte e conservação de amostras microbiológicas é o meio Stuart, no qual a carência de uma fonte de nitrogênio impede a multiplicação de micro-organismos e sua composição nutritiva garante a sobrevivência deles. Neste meio é possível conservar micro-organismos patogênicos como *Haemophilus spp.*, *Pneumococcus*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* entre outros. Após introduzir o swab no tubo contendo o meio, deve-se mantê-lo fechado e em temperatura ambiente até o momento de semear nos meios seletivos.

CONCLUSÃO

A qualidade da amostra biológica e a garantia de resultados confiáveis estão diretamente relacionadas a como é realizada a coleta, o transporte e o armazenamento da amostra. A conservação incorreta do material leva à degradação de analitos, contaminação e perda da amostra. Cada tipo de amostra terá seu frasco adequado para preservação e transporte até a fase analítica. É importante conhecer e aplicar as formas corretas de coleta para evitar gastos, recoletas, resultados incorretos e rejeição da amostra pelo laboratório de análise.

REFERÊNCIAS

- COSTA, Vivaldo Gomes da; MORELI, Marcos Lázaro. Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré-analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. J Bras Patol Med Lab, v. 48, n.3, p. 163-168, junho 2012. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/jbpml/a/gXPtrLLPCZwj8nPRCJGWSb/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 17 ago. 2022.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de vigilância sanitária sobre o transporte de material biológico humano para fins de diagnóstico clínico. 2015. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/transporte-de-material-biologico/manual-de-transporte-de-material-biologico-humano.pdf>>. Acesso em: 17 ago. 2022.
- SBPC/ML. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso. 2. ed. Barueri, SP: Minha Editora, 2010. Disponível em: <<http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320090814145042.pdf>>. Acesso em: 18 ago. 2022.
- SBPC/ML. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Coleta e Preparo da Amostra Biológica. 1. ed. Barueri, SP: Manole: Minha Editora, 2014. Disponível em: <www.sbpc.org.br/upload/conteudo/livro_coleta_biologica2013.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2022.
- PNCQ. Programa Nacional de Controle de Qualidade. Manual de coleta em laboratório Clínico. 3. ed. 2019. Disponível em: <pncq.org.br/wpcontent/uploads/2020/05/PNCQ-Manual_de_Coleta_2019-Web-24_04_19.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2022.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos. Disponível em: <https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod_4_2004.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2022.