

ORIENTAÇÕES DE ACONDICIONAMENTO E ENVIO DE AMOSTRAS

INTRODUÇÃO

Este diretório tem como objetivo auxiliar o médico veterinário na coleta, preservação e envio de amostras. A padronização do manejo da amostra como um todo é a forma de garantir segurança, confiabilidade e precisão dos resultados das análises.

VARIÁVEIS PRÉ-ANALÍTICAS QUE PODEM INTERFERIR NOS RESULTADOS DOS EXAMES:

- Ausência de dados do paciente: idade, raça, sexo, peso, fase de vida, data e hora da coleta.
- Em pedidos de hemogramas e perfis bioquímicos: História e suspeita clínicas do paciente (Isto ajuda na interpretação do resultado para liberação e para assessoria científica).
- Condição da coleta: Difícil, tranquila, demorada, etc.
- Prática de atividade física anterior a coleta: alterações após atividade elevam lactato, amônia, creatinoquinase, ALT, AST, fósforo, fosfatase ácida, creatinina, ácido úrico e contagem de leucócitos; albumina, ferro e sódio sofrem redução; níveis séricos de glicose também reduzem, concentrações total de leucócitos e de todos os tipos de leucócitos (com exceção das formas jovens) sofrem aumento; trombocitose e policitemia (ou eritrocitose) também são esperadas.
- Dieta e tempo de jejum não respeitados: o jejum de 8 horas é sempre recomendado. Sem jejum podem ocorrer alterações na bilirrubina, proteína total, ácido úrico entre outros, gerando assim resultados alterados.
- Animal sob estresse, agressividade, medo, ou outras alterações no comportamento durante a coleta, pode influenciar no resultado do exame.
- Volume de amostra coletada insuficiente.
- Uso de tubo correto é fundamental para evitar alterações da amostra. Sempre preencher a identificação dos tubos com anticoagulante primeiramente, a fim de evitar que a amostra coagule enquanto os outros tubos são identificados.
- Hemólise: Leve (pouco efeito sobre a maior parte dos exames). Hemólise significativa causa aumento na atividade plasmática da fosfatase alcalina, AST, desidrogenase láctica e nas dosagens de potássio, magnésio, fosfato, entre outros.
- Contaminação da amostra.
- Garroteamento prolongado.
- Armazenamento das amostras, as amostras devem ser preservadas desde o momento de sua coleta até seu recolhimento pelo Laboratório HVBR para análise, o tempo e o modo de armazenamento varia dependendo do exame.
- Todos os resultados dependem das condições prévias da amostra enviada e por isso é fundamental que a mesma esteja em condições adequadas para análise.
- Amostras de sangue devem ser manipuladas delicadamente, evitando quedas ou outros choques mecânicos, assim como a homogeneização deve ser de forma suave e imediata à introdução da amostra no tubo para evitar hemólise, coagulação e formação de fibrina ou agregados plaquetários.
- Recomendamos que após uma coleta de sangue se aguarde alguns minutos antes de liberar o proprietário do animal, assim é possível checar a qualidade da amostra e se necessário fazer uma nova coleta.

Com intuito de auxiliar em possíveis dificuldades por parte dos Médicos Veterinários em coletar, preservar e enviar adequadamente o material para análise, a fim de que possamos corresponder ao que se espera, o Laboratório HVBR recomenda que as informações a seguir sejam observadas com atenção.

ACONDICIONAMENTO E ENVIO DE MATERIAIS BIOLÓGICOS

Para cada tipo de exame é necessário um acondicionamento ADEQUADO. Para a maior parte dos exames a temperatura de armazenamento das amostras ideal está entre 2 e 8°C (Temperatura de geladeira) e para outros pode ser utilizado o congelamento ou até mesmo mantê-las em temperatura ambiente. A não exposição do material a luz é uma medida importante que deve ser adotada em alguns tipos de exames. É importante tomar cuidado para que a requisição de exames não entre em contato com água de gelo durante o armazenamento e transporte, para que a mesma não molhe e assim perca as informações contidas nesta. Citologias, biópsias, fezes e urina devem ser enviadas separadamente do restante do material.

PARASITOLÓGICO DE FEZES

O parasitológico de fezes pode fornecer ao clínico uma série de informações, não somente com relação aos distúrbios do trato digestivo, como também de enfermidades localizadas em outros órgãos. As amostras podem ser destinadas a exames parasitológicos, bacteriológicos, virológicos ou químicos.

COLETA

Em animais de grande e médio porte, o ideal é que se colha o material diretamente da ampola retal por toque retal, manual ou digital. Para aqueles animais que não permitem este tipo de manipulação ou em locais que dificultem o procedimento, devemos coletar a porção superior das fezes excretadas normalmente, que não teve contato com o solo. Existe ainda a possibilidade de se fazer um lavado retal, via sonda, para coletar o material para análise. Para tanto, deve-se utilizar uma sonda plástica acoplada a uma seringa que é introduzida no reto do animal, injetar o líquido de lavagem e puxar em seguida o êmbolo da seringa. Um volume de cerca de 10 a 20 ml de lavado retal é o suficiente.

O material para coprocultura pode ser colhido com Swabs estéreis. Neste caso, coleta-se o material diretamente do reto do animal, abrindo o invólucro do Swab apenas no momento da coleta e evitando-se encostar o mesmo nos pêlos do animal. Não utilize recipientes diferentes dos fornecidos pelo Laboratório HVBR.

CONSERVAÇÃO

As fezes podem ser conservadas em refrigeração (2° a 8°C - nunca congelar amostra) ou frasco especial fornecido pelo Laboratório HVBR que contém líquido preservante – que é capaz de manter, morfológicamente, os ovos de helmintos, ocistos de protozoários e larvas por um longo tempo. É importante salientar que a quantidade de fezes deve ser proporcional à quantidade do conservante. O material fecal deve estar submerso em boa quantidade do líquido preservante e não o contrário.

URINÁLISE

COLETA

A urina deve ser colhida com a máxima assepsia e antissepsia, cujo método preconizado padrão-ouro é a cistocentese. Amostras de urina destinadas a exames químicos e microscópicos devem ser colhidas em frasco padronizado estéril, fornecido pelo Laboratório HVBR. A colheita da urina pode ser realizada mediante micção espontânea ou provocada, por compressão da bexiga nos cães e gatos, cateterismo ou por punção de bexiga (cistocentese). Em cadelas, é preferível que utilize sonda apropriada. Nos machos, as sondas flexíveis são as de escolha, observando o diâmetro da sonda para cada tamanho de animal. Volume: no mínimo 5ml de urina é suficiente para uma completa análise. Ideal 10ml. Amostras de urina para exames bacteriológicos (mesmo para exames químicos ou microscópicos) devem preferencialmente ser colhidas diretamente da bexiga, mediante o uso de um cateter estéril ou por cistocentese, acondicionado em frasco ESTÉRIL fornecido pelo Laboratório HVBR.

CONSERVAÇÃO

Refrigerar (2° a 8°C) por um período máximo de 12 horas ou enviar a amostra o quanto antes. É interessante que, se possível, proteja-se a amostra da ação da luz, envolvendo-a em papel alumínio, papel carbono ou frasco âmbar.

CÁLCULOS URINÁRIOS

Colocar os cálculos em frasco limpo e seco. Não é necessário uso de conservantes. Manter a temperatura ambiente.

HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA SANGUÍNEA

COLETA

O local indicado para colheita de sangue nos caninos e felinos são as veias jugulares, cefálicas ou safenas laterais. Os sítios de coleta devem respeitar as variações entre espécies e condições físicas, além de que os métodos de contenção devem ser seguros, tanto para o Médico Veterinário quanto para a sua equipe, o volume indicado varia de acordo com o tubo utilizado e ou os exames solicitados.

TIPOS DE AMOSTRAS

Para muitas provas bioquímicas e imunológicas, se faz necessário o uso do sangue total colhido em tubo de tampa vermelha ou amarela, para tanto, não se deve utilizar nenhum preservante (sem anticoagulante). Portanto, as amostras devem ser preservadas em função do exame a ser realizado. De forma mais clara, as amostras biológicas destinadas ao Laboratório HVBR podem ser classificadas da seguinte maneira:

SANGUE TOTAL

Indicado para hemograma completo (contagem global de hemácias, leucócitos, plaquetas, determinação do hematócrito, VCM; HCM; CHCM, e dosagem de hemoglobina), dosagem de pH metabólitos sanguíneos (corpos cetônicos, ácido láctico, amônia) e presença quantitativa de algum metal (chumbo, zinco, manganês, molibdênio e cádmio). Colher por punção venosa utilizando o frasco a vácuo ou puncionar a veia com seringa e coletar de 1,5 a 3 mL de sangue dependendo do tubo utilizado. Este procedimento deve demorar no máximo 2 minutos. Homogeneizar por, no mínimo, 30 segundos de maneira sutil e imediata à coleta. Para eritrograma, leucograma e pesquisa de hemoparasitas, coletar em tubo contendo EDTA (tampa roxa). Manter as amostras de sangue refrigerado (2 e 8°C) por no máximo 48 horas. Nunca congelar amostras destinadas a hemograma.

SORO SANGUÍNEO OU SANGUE TOTAL COLHIDO EM TUBO DE TAMPA VERMELHA OU AMARELA

É a porção do sangue que pode ser separada do coágulo por decantação, após o sangue total ter coagulado. É utilizado para os seguintes exames: proteínas, eletrólitos, microelementos, metabólitos, lipidograma, atividades enzimáticas, sorológicas e imunossorológicas. Cuidados devem ser tomados quanto ao calibre da agulha, pressão no êmbolo, tempo de garroteamento, depósito no tubo e manipulação do material para que se evite hemólise. A quantidade a ser coletada poderá variar de acordo com a capacidade do tubo utilizado ou os exames a serem realizados, identifique o tubo e deixe em temperatura ambiente até coagular, após deixá-lo sob refrigeração até que seja encaminhado ao Laboratório HVBR.

PLASMA SANGUÍNEO - TUBO DE TAMPA AZUL, CINZA, PRETA, VERDE OU ROXA

É o sobrenadante do sangue total com anticoagulante após centrifugação das células do sangue. Esse procedimento é realizado no Laboratório HVBR e é indicado para determinação de fatores da coagulação e de certos metabólitos. Para separação adequada da parte líquida do sangue das células é necessário uma centrifugação a 3000 rpm, por um período de 5 a 10 minutos, sob refrigeração a 4°C ou temperatura ambiente, dependendo do exame realizado.

ANTICOAGULANTES

Para a preservação de uma amostra de sangue para hematologia e algumas análises bioquímicas, se faz necessário o uso de anticoagulante específico.

EDTA (ÁCIDO ETILENODIAMINOTETRACÉTICO) – TUBO DE TAMPA ROXA

Este anticoagulante age quelando os sais de cálcio, que são fundamentais para os processos de formação do coágulo. É o anticoagulante de escolha em hematologia das principais espécies domésticas, pois, se usado corretamente, é o que melhor preserva as células e suas características morfológicas. Utiliza-se 1mg para 1 mL de sangue ou 0,5 mL de solução a 1% para 5 mL de sangue ou 0,1 mL de solução a 1% para 1 mL de sangue.

HEPARINA – TUBO DE TAMPA VERDE

A heparina evita a coagulação sanguínea por interferir especificamente na conversão da protrombina em trombina. Pode ser usada em hematologia embora possa interferir um pouco com a coloração das células, em especial dos leucócitos. Não é efetiva para período superior a um dia. Pode ser empregada quando se pretende fazer análises hematológicas e bioquímicas em uma mesma amostra. Utiliza-se uma concentração de 0,2 ml de heparina saturada por mL de sangue. Após 24 horas ocorre degeneração nuclear e citoplasmática dos neutrófilos e degeneração citoplasmática dos monócitos.

FLUORETO DE SÓDIO – TUBO DE TAMPA PRETA OU CINZA

É empregado na conservação do sangue para dosagem de glicose. Atua sobre as hemácias inibindo o processo de glicólise, mantendo este metabólito por mais tempo na amostra até a dosagem.

CITRATO DE SÓDIO – TUBO DE TAMPA AZUL

O citrato de sódio age quelando cálcio impedindo o processo de coagulação. É empregado na conservação do sangue para as análises de fibrinogênio, tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, ou seja hemostasia secundária. Para conservação do sangue utiliza-se 1 parte de anticoagulante para 9 partes de sangue total (1:10).

MEDULA ÓSSEA

Indicada para realização de mielograma e pesquisa de hemoparasitas, pode ser obtida por punção em ossos chatos e longos (úmero, crista ilíaca, esterno, etc). A punção deve ser realizada com agulha contendo mandril monofacetado e dispositivo regulador de comprimento, que confere mais segurança ao profissional e eficácia ao procedimento (evitando entupimento e contaminação da amostra). A medula óssea coagula rapidamente, mantenha na seringa de coleta com anticoagulante EDTA 5%, evitando assim a coagulação do material desde sua coleta até confecção das lâminas.

Para realização do mielograma envie juntamente com o material coletado em tubo de tampa roxa, 3 a 5 lâminas confeccionadas logo após a coleta para preservar a morfologia das células. Outros exames podem ser realizados com a mesma amostra de medula óssea encaminhada, como reação em cadeia da polimerase (PCR) para leishmaniose, erliquiose, dentre outros hemoparasitas.

LÍQUIDOS CAVITÁRIOS

As técnicas de obtenção de amostra biológica de líquidos cavitários seguem basicamente os mesmos parâmetros de uma punção venosa básica, observando-se obviamente as diferenças anatômicas da região do corpo e espécie a ser explorada. Ater-se a consistência e a viscosidade do líquido a ser aspirado para a seringa, principalmente em exsudato purulento por vezes, é tão espesso que só permite aspiração com agulhas de grosso calibre. Coletar cerca de 3 ml do fluido com a seringa e passar para um frasco de tampa vermelha e coletar mais 3 ml em frasco de tampa roxa. Sempre preencha primeiro o tubo de tampa roxa. Líquido Cefalorraquidiano (líquor) punção em 3 tubos com 1ml cada, coletados em série por gotejamento. Confeccionar a lâmina utilizando técnica de "Squash" e secá-la ao ar. Identificar cada lâmina e mandar junto com amostra para análise do líquido cavitário.

CONSERVAÇÃO

O frio de geladeira (cerca de 2 a 8 °C) conservará bem a amostra biológica por um período de até 36 horas. Recomenda-se enviar a amostra o quanto antes ou confeccionar lâminas de esfregaço (através de "squash") no momento da coleta, a fim de evitar a perda de características citológicas da amostra. É importante lembrar que não se deve congelar a amostra biológica. O congelamento destrói os elementos celulares.

IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

A identificação deve conter nome do animal, o nome completo do proprietário do animal, a espécie, raça, sexo, idade, data, hora da colheita, um breve histórico do quadro, suspeita clínica. Importante incluir de **qual cavidade** foi coletada a amostra (pleural, peritoneal ou pericárdica). Informe ao Laboratório HVBR todos os medicamentos que estão sendo usados, mesmo os mais comuns.

EXAMES MICROBIOLÓGICOS

COLETA PARA MICROBIOLOGIA

A realização de exames microbiológicos requer cuidado especial tanto na coleta quanto no transporte e armazenamento do material. Erros na coleta, transporte ou armazenamento do material podem acarretar falhas no isolamento do agente etiológico e favorecer o crescimento de microrganismos contaminantes, resultando em erros de diagnóstico e, conseqüentemente, de tratamento.

EXAMES DO RASPADO DE PELE

No exame do raspado cutâneo, pode-se pesquisar ectoparasitas e fungos e deste material ainda podemos obter amostra para exames microbiológicos de bactérias e fungos. Em algumas afecções, o raspado de pele é um procedimento imprescindível para o estabelecimento de um diagnóstico decisivo.

O raspado deve ser realizado no limite da região afetada com a região sã, ou sobre as pápulas e pústulas em casos de lesões pequenas e difusas, utilizando-se uma lâmina de bisturi, fazer um raspado profundo a ponto de sangrar efetivamente o ferimento produzido, obtendo-se sobre a lâmina de bisturi uma papa de material de pele, sangue e pêlos daquela região.

O material obtido aderido à lâmina de bisturi, bem como os pêlos da região, devem ser colocados entre lâminas vedadas em toda sua lateral (Para pesquisa de ácaros) e os pêlos em pote seco ou envelope (Para pesquisa de fungos) para serem enviados ao Laboratório HVBR, onde este material vai ser tratado e examinado. A lâmina de bisturi, material pérfuro cortante, por medidas de biossegurança, não deve ser enviada.

IMPORTANTE: Como o Laboratório HVBR pode utilizar KOH na preparação das lâminas de pesquisa de fungo, é recomendado que não seja utilizado óleo mineral, pois esta substância interfere na ação do KOH no momento da leitura da lâmina.

Obs: Preferencialmente o animal não deve estar utilizando medicamentos tópicos por, no mínimo, duas semanas, evitando-se resultados falso-negativos.

- Fazer uma boa assepsia no pêlo do animal com álcool 70% (não esfregar);
- Em animais de pêlos longos realizar tricotomia parcial, deixando os pêlos com 0,5 a 1,0 cm de comprimento.
- Incluir pêlos partidos, pêlos íntegros retirados de dentro dos folículos com pinça hemostática e descamação, não coletar exsudatos;
- Raspar todas as áreas do corpo que tiverem lesões;
- A amostra deve ser representativa, pois pouco material pode levar a resultado falso-negativo.
- Evitar envio de amostras coletadas com fitas adesivas (durex).

COLETA DE SECREÇÃO DE OUVIDO

Deve-se realizar a limpeza da parte externa do ouvido com uma solução degermante suave. Obter, com auxílio de um "swab", o material da parte mais profunda, incluindo secreções frescas. Evitar tocar nas paredes externas do ouvido. Os "swabs" devem ser enviados em meio de transporte Stuart, devendo-se identificar as amostras correspondentes aos lados direito e esquerdo.

COLETA PARA COLORAÇÃO GRAM

Amostras devem ser coletadas assepticamente, por "swab" ou punção aspirativa. Devem ser confeccionados pelo menos dois esfregaços em lâminas limpas e desengorduradas. Os esfregaços devem ser feitos com movimentos circulares, a partir do centro da lâmina, homogênea e deixando secar ao ar. As amostras de fezes, esperma e amostras de consistência líquida (urina, líquidos corporais etc.) devem ser encaminhadas em frascos estéreis o mais rápido possível ou sob refrigeração (2 a 8°C) nos casos em que a refrigeração não comprometa exames solicitados concomitantemente na mesma amostra.

CULTURAS DE BACTÉRIAS AERÓBIAS

Para isolamento bacteriano o material a ser colhido deve ser representativo do processo infeccioso investigado. A realização correta da coleta necessita seguir os seguintes itens:

- Coletar no foco da área suspeita;
- Coletar quantidade significativa de material para análise completa;
- Identificação do material, bem como os dados do paciente, data e hora de coleta;
- Usar frascos estéreis e adequados para cada tipo de material;

Erros na coleta e identificação da amostra como fixação em formol, frascos não estéreis e "swabs" secos impossibilitam o uso do material.

CULTURAS DE BACTÉRIAS ANAERÓBIAS

Como a maior parte dos microorganismos anaeróbicos não sobrevive por mais de 20 minutos na presença de oxigênio devem-se adotar medidas rigorosas para coletas como:

- Evitar contaminação com flora normal endógena;
- Se possível coletar através de aspirado com agulha e seringa ou através de fragmentos do tecido infestado;
- Eliminar o ar residual;
- Assepsia da pele antes de aspirar abscesso, biópsia, líquido, aspirado para cultura de urina, sangue, ou aspirado profundo de feridas abertas;

- Não deixe a amostra em contato com ar por mais de 20 minutos. Fazer um GRAM, além da cultura, pois as infecções geralmente são mistas;
- Manter em temperatura ambiente.

CULTURA DE FUNGOS

É um exame que visa identificar possíveis patógenos (ex.: dermatófitos), cujo crescimento demora em torno de 12 dias, tempo necessário para o crescimento da maioria dos fungos. Quando houver positividade em qualquer prazo antes dos 12 dias o resultado será comunicado imediatamente.

A coleta exige uma assepsia bem feita e o material deve ser enviado em frasco coletor universal bem vedado ou em envelopes apropriados, em temperatura ambiente. Não enviar amostras em tubos tampados com rolhas de algodão.

Contaminantes externos podem interferir no crescimento dos fungos. Realizar arrancamento de pêlos na borda da lesão, enviando pêlos íntegros (bulbo, raiz e haste) ou mesmo raspado cutâneo com pêlos (não enviar pêlos cortados). Também podem ser encaminhados fragmentos de pele e urina.

HEMOCULTURA

Método utilizado para pesquisa de microrganismos na circulação sanguínea, cujo punção venosa é a ideal para coleta de material e isolamento microbiano (quando comparada com a punção arterial). O volume de sangue a ser coletado é de fundamental importância para realização do exame. Procedimentos de coleta:

- Realizar todos os procedimentos de assepsia e antisepsia das mãos, usar luvas;
- Desinfecção prévia das tampas dos frascos com álcool 70%;
- Tricotomia e antisepsia da área de punção, deixar secar ao ar e não tocar mais;
- Aplicar solução iodada (tintura de iodo 1 a 2% ou PVPI 10%), deixar secar por 1 a 2 minutos antes de efetuar a coleta;
- Identificar os frascos e enviar ao Laboratório HVBR, juntamente com a ficha de solicitação preenchida;
- Volume ideal para análise é de 10% do volume total do frasco de coleta;
- Para cães de grande porte recomenda-se de 5 a 10 ml, já em cães de pequeno porte ou gatos 1 ml;
- As amostras devem ser coletadas em frascos específicos, devendo ser solicitados ao Laboratório HVBR.
- Não refrigerar o frasco, mantendo-o em temperatura ambiente e enviar o mais rápido possível para o Laboratório HVBR.

EXAME ANÁTOMO-PATOLÓGICO

A análise anatomopatológica é utilizada para diagnosticar lesões degenerativas, inflamatórias, neoplásicas e identificação de agentes infecciosos a partir da análise microscópica tecidual. Além disso, permite a avaliação das margens cirúrgicas nos casos neoplásicos, dando suporte na avaliação do prognóstico do paciente oncológico e abordagem terapêutica pós-operatória.

A qualidade do exame histopatológico depende de sua boa execução em três fases: pré-analítica, analítica e pós-analítica. A fase pré-analítica se inicia durante a coleta, fixação e identificação da amostra, preenchimento completo da requisição com a descrição adequada do material a ser enviado e informações clínicas do paciente. Nesta fase é importante não ocorrer falhas na preservação e transporte do material. Durante a fase analítica o fragmento histológico é processado no Laboratório HVBR, inspecionado e analisado pelo Médico Veterinário Patologista. A fase pós-analítica compreende a interpretação dos resultados e diagnóstico da lesão para estabelecimento da conduta terapêutica do médico veterinário responsável. A participação de todos os profissionais envolvidos é muito importante para que se estabeleça com maior rigor possível o diagnóstico e tratamento da patologia e seja possível proporcionar uma recuperação adequada do paciente.

Devemos seguir algumas regras básicas para a obtenção de bons resultados através do exame histopatológico:

- Informações do paciente e histórico clínico detalhado:

As informações clínicas relativas à idade, gênero e raça associadas ao histórico clínico do animal são fundamentais para a determinação de diagnósticos diferenciais ou elaboração de comentários relativos aos possíveis diagnósticos. Se possível, enviar junto a requisição as informações sobre tempo de evolução da lesão, histórico detalhado de lesões anteriores, resultado de exames complementares (radiografias, ultrassonografias, exames hematológicos, bioquímicos, etc), tratamento e vacinações anteriores e suspeita clínica.

- Descrição macroscópica da lesão: Informar:

Localização anatômica (Ex.: "Região cervical dorsal" , "região dorso-proximal do membro pélvico direito" , etc.), quantidade de lesões (Ex.: " múltiplos nódulos em membros anteriores" , "dois nódulos em pescoço e cabeça" , etc.), dimensões da lesão (Ex: "1,0 cm de diâmetro" , "2,5 x 4,0cm" , etc.), topografia e formato da lesão (Ex: "plana" , "arredondada" , "formato de pólipo" , "irregular" , etc.), consistência da lesão (Ex: "flutuante" , "firme" , "macia" , etc.), coloração (avermelhada, enegrecida, pálida, etc), características gerais (aderências, ulcerações, alopecia, presença de dor, prurido, etc), tempo de evolução (Ex: "2 dias" . "4 meses" , "7 anos" , etc.) e demais descrições que forem julgadas úteis.

- Técnica de colheita:

Um resultado de exame histopatológico confiável começa com a coleta de um fragmento adequado para análise. O método de coleta deve ser avaliado cuidadosamente de acordo com cada lesão e sua localização. A biópsia excisional compreende a retirada da lesão em sua totalidade e quando possível com margens cirúrgicas amplas. Nos casos de avaliação das margens, identificá-las com marcações, como pontos cirúrgicos, para facilitar e detalhar a descrição. Já a biópsia incisional é realizada geralmente em lesões de grandes dimensões ou aquelas em que há dificuldade de remoção total, sendo retiradas pequenas amostras representativas que permitam o diagnóstico histopatológico. Nestes casos, recomenda-se que sejam retiradas amostras de diferentes locais de lesão, evitando áreas de necrose ou ulceração, pois podem dificultar o diagnóstico. Os fragmentos retirados por biópsia incisional devem ter entre 0,5 e 1 cm de espessura. As superfícies de corte devem compreender, sempre que possível, uma parte do tecido lesionado e outra do tecido sadio adjacente evitando área central da lesão.

Cuidado: A colheita de material para histopatológico necessita imperativamente de sedação, anestesia local e/ou geral, segundo critérios e protocolos do clínico veterinário responsável. Lembrando a importância também dos devidos cuidados pré-cirúrgicos (avaliação de risco cirúrgico, jejum, antisepsia local, etc). A seleção e triagem do paciente devem seguir rigoroso controle como em qualquer outro caso cirúrgico.

- Fixação e envio do material ao Laboratório HVBR:

O correto manejo da amostra, desde o momento da coleta até sua chegada ao Laboratório HVBR é essencial para manter a devida preservação tecidual e evitar a formação de artefatos indesejáveis e autólise, capazes de prejudicar completamente a avaliação. A função da fixação é a de inibir o processo de autólise fragmento coletado para que este possa ser adequadamente analisado quando chegar ao Laboratório HVBR. A qualidade da fixação pode impactar consideravelmente na viabilidade do tecido.

Vários fatores devem ser considerados no momento de fixação do material coletado:

- O fragmento de tecido deve ser acondicionado em formalina 10% imediatamente após a excisão, respeitando um limite máximo de 30 minutos após a coleta.
- Os órgãos luminais (intestino, útero, vasos calibrosos, etc) devem receber uma descarga de formalina 10% sobre sua superfície luminal intacta.
- Os fragmentos muito grandes devem ser parcialmente fatiados, permitindo a penetração da formalina 10%. Não se deve cortar as bordas da amostra caso exista interesse em avaliar as margens cirúrgicas.
- Os recipientes para acondicionar as amostras devem ser proporcionais aos seus tamanhos e comportar o volume de formol e de fragmento tecidual.
- Os frascos devem ser hermeticamente fechados não devendo apresentar vazamentos.
- O gargalo do recipiente deve ser mais largo do que a amostra, pois, apesar de os tecidos frescos serem flexíveis e maleáveis, as amostras fixadas com formalina tornam-se rígidas, o que dificulta a sua manipulação através de um orifício estreito.
- O transporte de recipientes de vidro não é recomendado devido ao risco de quebra.
- A amostra deve ficar no mínimo 24 horas em formalina 10% antes de ser enviada ao laboratório HVBR. Após este período, deve-se verificar se o fragmento encontra-se totalmente fixado (caso não esteja, a porção mais interna ainda permanecerá avermelhada).
- No momento do envio com o tecido já devidamente fixado, deve ser retirado da formalina e embalado em saco plástico e lacrado, enviando somente o fragmento histopatológico ao Laboratório HVBR.
- Preconiza-se o uso de sacos plásticos separados para cada amostra individualmente identificadas com nome da clínica/médico veterinário, nome do proprietário, animal, espécie, raça, idade e o local de coleta.

CUIDADO: Amostras não acondicionadas em formalina a 10%, acondicionadas em quantidades insuficientes ou não fixadas por tempo suficiente nesta solução, amostras congeladas, são CAUSAS DE REJEIÇÃO DE MATERIAL OU RESULTADOS PREJUDICADOS.

DICA: Para obter a solução de formalina a 10%, dilui-se 1 parte de formaldeído comercial (40%) em 9 partes de solução fisiológica de NaCl 0,9% ou água destilada.

IMUNOHISTOQUÍMICA

As instruções citadas no Exame Anátomo-Patológico são utilizadas também na imunoistoquímica. A imunoistoquímica é uma técnica que utiliza, em cortes histológicos, a aplicação de anticorpos anti-antígenos específicos (em geral, proteínas) em associação com métodos de detecção altamente sensíveis para revelação da ligação antígeno (em geral, marcador tumoral) e anticorpo. Dessa maneira, o patologista identifica a expressão de marcadores teciduais, simultaneamente à avaliação morfológica. A imunoistoquímica é recomendável em todo material que foi submetido ao exame histopatológico para determinação de um diagnóstico definitivo de processos neoplásicos em que a avaliação histopatológica de rotina, com ou sem auxílio de colorações especiais, não consegue definir o caso. A aplicação das técnicas de colorações especiais e imunoistoquímica, em associação com a experiência do patologista, tem grande valor no auxílio da definição diagnóstica, além de fornecer o valor prognóstico (desfavorável, reservado e favorável) de determinadas neoplasias.

Na maioria dos casos, utilizar o exame imunoistoquímico pode auxiliar no diagnóstico de doenças inflamatórias, infecciosas e neoplasias, ou ainda influenciar o melhor tratamento e provável evolução dos tumores, pela obtenção de dados mais precisos e individualizados sobre a lesão histológica.

CITOLOGIA ASPIRATIVA POR AGULHA FINA

A citologia é um método de diagnóstico rápido utilizado como ferramenta de triagem para a escolha da abordagem terapêutica. Através da análise citológica se obtém características individuais das células que fornecem ao veterinário informações sobre o tipo de lesão observada - inflamatória (inflamação aguda ou crônica) e neoplásica (neoplasia benigna ou maligna) - necessitando muitas vezes do exame histopatológico para a confirmação diagnóstica pela observação da arquitetura tecidual.

Os cuidados com o envio do histórico completo do paciente junto a requisição preenchida e a amostra são os mesmos do exame histopatológico. É importante identificar as lâminas enviadas com o nome do paciente e o local de coleta, além da identificação dos frascos "porta lâminas" (nome do paciente, proprietário etc).

A qualidade do exame citológico depende da técnica de coleta utilizada e fixação da amostra. O material coletado através da punção aspirativa por agulha fina deve ser expelido em lâmina de vidro limpa, distribuído com auxílio de outra lâmina e fixado em álcool 70% por 1 minuto. É indicado o envio de no mínimo três lâminas citológicas para uma análise criteriosa e menor chance de se obter um diagnóstico inconclusivo.

Dicas de envio:

- Preferível o envio das lâminas de vidro em frasco adequado (porta lâminas) para evitar perda e quebra do material;
- Procure enviar as lâminas separadas, evitando que elas grudem umas nas outras, gerando possíveis artefatos.
- Procure enviar as lâminas já fixadas em álcool 70% para evitar a degeneração das células e resultado inconclusivo.

Fonte: TECSA | PORTFÓLIO DE SERVIÇOS E EXAMES 2021

EXAMES URGENTES

É preciso ter cuidado com materiais biológicos considerados urgentes e/ou com curto prazo de conservação, o material deve ser colhido e enviado o mais rápido possível ao laboratório HVBR, fique atento ao nosso horário de funcionamento e coleta de material.

OBSERVAÇÕES FINAIS

Por mais óbvio que possa parecer, estes cuidados básicos aqui expostos não podem ser negligenciados sob pena de inviabilidade de amostras e grandes erros de interpretação. Portanto, procurem sempre trabalhar com o máximo de critério profissional.

Dúvidas sobre a técnica de coleta, preparo de lâminas e envio de amostras
(21) 3995-4303 Ramal 1001 | (21) 96507-6305 ou e-mail laboratorio@hvbr.com.br.