

Ministério da Saúde
Secretaria de Políticas de Saúde
Programa Nacional de DST e Aids

Técnicas para Coleta de Secreções

Brasília 2001

MINISTÉRIO DA SAÚDE

José Serra

Ministro de Estado da Saúde

Cláudio Duarte

Secretário de Políticas de Saúde

Paulo Roberto Teixeira

Coordenador Nacional de DST/AIDS-MS

Miriam Franchini

Coordenadora de Produção do Projeto TELELAB

Autores

Cláudia Renata Fernandes Martins

José Antônio Pinto de Sá Ferreira

Luiz Fernando de Góes Siqueira

Luís Alberto Peregrino Ferreira

Maria Luíza Bazzo

Miriam Franchini

Oscar Jorge Berro

Sílvio Valle

Assessoria Pedagógica

Maria Lúcia Ricciotti Ribinik

Martistela Arantes Marteleto

Técnicas para Coleta de Secreções. – Brasília : Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis. Aids, 1997.

51 p.: il. – (Série TELELAB).

1. Coleta de secreções. I. Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids (Brasil). II. Série TELELAB

Os responsáveis pela implantação do TELELAB empenharam toda sua capacidade profissional para tornar este projeto digno da qualidade técnica e científica e da eficiência que nossa coordenadora-geral sempre imprimiu às realizações do Programa Nacional de DST/AIDS do Ministério da Saúde.

À **Dra. Lair Guerra de Macedo Rodrigues**, exemplo de coragem e liderança, dedicamos este trabalho.

Pedro Chequer



APRESENTAÇÃO.....	06
INTRODUÇÃO.....	11
O PROFISSIONAL DE SAÚDE E O PACIENTE.....	11
A AMOSTRA.....	12
tipos de amostra e testes de escolha.....	14
materiais para coleta de secreções.....	14
SECREÇÃO MASCULINA.....	17
seqüência da coleta no homem.....	19
coleta no homem para exame a fresco.....	20
coleta no homem para diagnóstico do gonococo.....	21
coleta no homem para diagnóstico da clamídia.....	21
SECREÇÃO FEMININA.....	23
seqüência da coleta na mulher.....	25
coleta de secreção uretral feminina.....	26
coleta de secreção vaginal.....	26
coleta de secreção endocervical.....	27
COLETA DE SECREÇÃO ANAL E OCULAR.....	29
PREPARO DA AMOSTRA.....	33
lâminas e esfregaço.....	35
SEMEADURA E ARMAZENAMENTO.....	37
meio de Amies.....	39
meio de Thayer-Martin modificado.....	40
atmosfera de CO ₂	41
meio de tioglicolato, ágar-sangue, Agar-mc-Conkey e meio de Stuart.....	42
TRANSPORTE DE AMOSTRAS.....	43
BIOSSEGURANÇA.....	47- 62
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	



Agora você faz parte do Sistema de Educação a Distância para profissionais da saúde envolvidos com o diagnóstico laboratorial das Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids - DST/AIDS - TELELAB.

O TELELAB foi criado para levar até você cursos com informações indispensáveis para que seu trabalho seja realizado dentro dos padrões de qualidade estabelecidos pelo Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids, do Ministério da Saúde - PN-DST/AIDS-MS.

Assistindo ao programa de vídeo e estudando este manual, você terá a oportunidade de verificar o que pode ser mudado no seu dia-a-dia e o que pode ser mantido.

Assim, você terá mais confiança nos resultados do seu trabalho e mais tranquilidade no que se refere à sua segurança pessoal.

GUARDE ESTE MANUAL PARA CONSULTAR SEMPRE QUE NECESSÁRIO. ELE É SEU. USE-O!

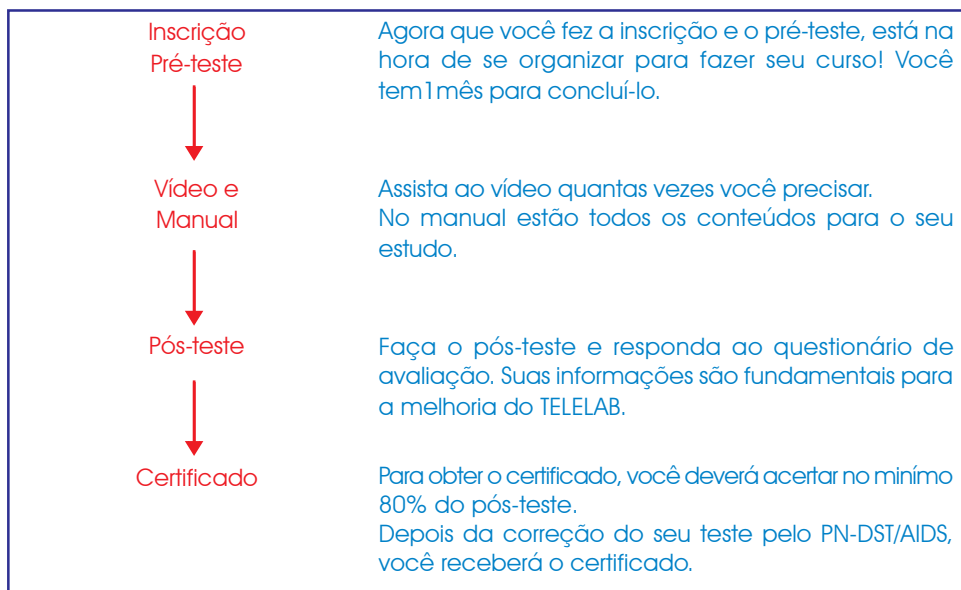
**Para esclarecimentos de dúvidas e sempre que precisar,
comunique-se diretamente com**

TELELAB - PN-DST/AIDS-MS

Telefax gratuito: 0800 - 61 - 2436



Funcionamento do seu curso TELELAB



Ao final deste curso você será capaz de:

- ♦ identificar os procedimentos e técnicas recomendados pelo PN-DST/AIDS para a identificação, a coleta, o preparo, o armazenamento e o transporte de amostras de secreções; e
- ♦ executar a identificação, a coleta, o preparo, o armazenamento e o transporte de amostras de secreções, obedecendo aos critérios técnicos, critérios de controle de qualidade e cuidados de biossegurança recomendados.



INTRODUÇÃO

A necessidade crescente de combater e controlar as Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) tem estimulado especialistas a desenvolver estratégias e metodologias capazes de atender, em nível local, grandes massas populacionais.

Dentro desse contexto, o laboratório oferece contribuição indispensável para a agilização das rotinas de diagnóstico.

Além disso, frente a quadros com variações de características clínicas e a casos com multietiologia, cada vez mais freqüentes, o laboratório se apresenta como única alternativa de diagnóstico.

O correto diagnóstico laboratorial depende da coleta adequada de amostras para os testes.

Este manual apresenta, passo a passo, os procedimentos e técnicas recomendados pelo Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids do Ministério da Saúde, para coleta, identificação, semeadura, armazenamento e transporte de amostras de secreção uretral, vaginal, endocervical, anal e ocular. Ao mesmo tempo, alerta você para os critérios de controle de qualidade e os cuidados de biossegurança indispensáveis para o desempenho seguro de suas tarefas. Para saber mais sobre o diagnóstico laboratorial das DST/aids, faça os outros cursos da série TELELAB.

Lembre-se: tudo começa com a coleta adequada das amostras.

O PROFISSIONAL DE SAÚDE E O PACIENTE

Como receber o paciente e que informações fornecer?

Receba o paciente com simpatia e cordialidade. A cada etapa, explique os procedimentos a que ele vai ser submetido, de modo a transmitir-lhe tranquilidade.



Em que casos se deve aconselhar o paciente a fazer também os testes de Sífilis e HIV?

Todo paciente atendido nas clínicas de DST/aids deve ser estimulado a fazer os testes de Sífilis e de HIV.

A AMOSTRA

Quais as amostras colhidas no homem para o diagnóstico laboratorial da DST?

Em pacientes do sexo masculino, a secreção uretral é o material de escolha para o diagnóstico da uretrite gonocócica e da clamídia, além do exame a fresco para diagnóstico de *Trichomonas sp.*, *Gardnerella vaginalis* e *Candida sp.* Novos testes utilizando a urina como amostra estão sendo desenvolvidos, porém, ainda não apresentam a eficiência desejada.

Quais as amostras colhidas na mulher para o diagnóstico laboratorial das DST?

A secreção endocervical e a uretral são as mais indicadas. A coleta da secreção vaginal é indicada apenas para criança, para mulheres histerectomizadas e para o diagnóstico de *Trichomonas sp.*, *Gardnerella vaginalis* e *Candida sp.* A secreção uretral é utilizada em casos de uretrite, ou quando, por indicação e combinação com a coleta endocervical, aumentar a possibilidade de um diagnóstico conclusivo para *Neisseria gonorrhoeae* ou Clamídia.

Que outras amostras podem ser utilizadas para o diagnóstico da DST?

A secreção ocular, em casos de oftalmia gonocócica ou por clamídia em recém-nascidos; a secreção anal, em casos suspeitos de infecção gonocócica anal e a secreção orofaríngea em pacientes que apresentam sintomas clínicos.



Qual o teste de escolha para o diagnóstico da uretrite gonocócica masculina?

A bacterioscopia pela técnica de coloração de Gram é a mais indicada. Em pacientes masculinos esta técnica tem sensibilidade em torno de 95% para caracterização de uma amostra positiva, além de ser muito rápida e econômica.

A cultura do gonococo, em homens, está reservada aos casos de suspeita de resistência desta bactéria aos antimicrobianos. A cultura é recomendada também quando a bacterioscopia for negativa e permanecer a suspeita clínica, e para amostras de secreção anal, orofaríngea e ocular.

Qual o teste de escolha para o diagnóstico da infecção gonocócica na mulher?

A cultura do gonococo é o teste de escolha para diagnóstico dessa infecção na mulher.

A bacterioscopia não deve ser utilizada, pois apresenta baixa sensibilidade em amostras femininas.

Quais os testes de escolha para o diagnóstico das infecções por clamídia?

Tanto para pacientes do sexo masculino quanto feminino, o método "Padrão Ouro" para o diagnóstico da clamídia é a cultura celular. Entretanto, esse método é de difícil execução e está disponível em poucos laboratórios do país.

O PN-DST/AIDS do Ministério da Saúde recomenda o teste de Imunofluorescência Direta (IFD) para serviços com pequeno número de amostras. Para serviços com grande rotina são recomendados os testes imunoenzimáticos do tipo ELISA seguidos, no caso de amostras reagentes, de um teste confirmatório do tipo "Blocking" (reação de bloqueio) ou de IFD.

Para saber mais sobre os testes de clamídia faça o curso Diagnóstico Laboratorial da Clamídia da Série TELELAB.



Quais os materiais necessários para fazer a coleta de secreções?

- ♦ Sala
- ♦ Pia
- ♦ Mesa ginecológica
- ♦ Foco de luz
- ♦ Espéculo vaginal
- ♦ Swab ou zaragatoa de haste de alumínio com algodão tratado e não tratado
- ♦ Swab ou zaragatoa de haste de plástico ou madeira com algodão tratado e não tratado
- ♦ Metanol
- ♦ Lâminas
- ♦ Lamínulas
- ♦ Gaze estéril
- ♦ Solução salina estéril
- ♦ Meios de cultura
- ♦ Meios de transporte
- ♦ Etiqueta para identificação de amostra
- ♦ Lápis
- ♦ Recipiente com boca larga, paredes rígidas e tampa contendo hipoclorito de sódio a 2%
- ♦ Luvas descartáveis
- ♦ Touca, máscara e óculos

Que tipo de swab dever ser utilizado para a coleta de secreções?

Depende da finalidade da coleta.

Para bacterioscopia, exame a fresco e algumas culturas bacteriológicas de rotina, utilize swab com haste plástica, alumínio ou madeira e algodão não tratado.

Para cultura de gonococo, utilize swab com algodão alginatado ou com carvão. O swab comum de algodão é contra-indicado, pois os ácidos graxos presentes no algodão inativam os gonococos, impedindo os seu crescimento em meios de cultura.



Para imunofluorescência direta - IFD, ensaio imunoenzimático - Elisa ou cultura de clamídia, utilize swab com haste plástica ou de alumínio.

O swab de haste de alumínio tem o diâmetro mais adequada para coleta de secreção uretral.

Jamais utilize swab tratado com carvão na coleta de amostras para clamídia, pois o carvão deixa resíduos que interferem na qualidade da amostra.

Se você utilizar swab tratado com carvão na coleta de amostra para a cultura do gonococo, colha antes a amostra para clamídia.



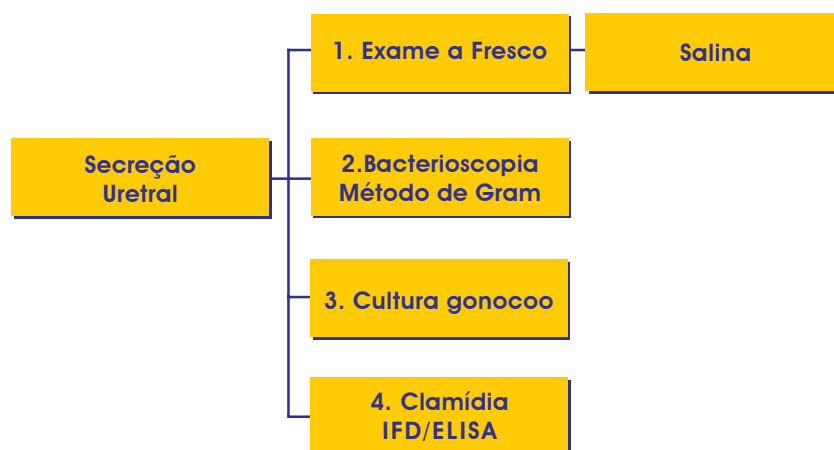
Figura 1: Swabs diversos



Qual a seqüência para coletas de amostras no homem?

Para definir a seqüência, utilizamos como exemplo um paciente que teve solicitação de exames para pesquisa dos principais agentes etiológicos causadores das DST.

Observe a seqüência:



Essa seqüência deve ser adaptada segundo a solicitação do médico, desconsiderando as etapas que incluem exames que não foram solicitados.

Colha primeiro a amostra para clamídia se você utilizar swab com algodão tratado com carvão na coleta de amostra para cultura de gonococo.



Como fazer a coleta da secreção uretral masculina para exame a fresco?

1. Coloque uma gota de salina sobre uma lâmina previamente identificada;
2. Solicite ao paciente para retrair o prepúcio;
3. Limpe a secreção emergente com gaze estéril;
4. Certifique-se de que a uretra esteja reta;
5. Introduza o swab cerca de 2 centímetros no canal uretral atravessando a fossa navicular;
6. Gire o swab delicadamente de 8 a 10 vezes para absorver a secreção;
7. Retire o swab, coloque a secreção sobre a salina na lâmina e homogeneize;
8. Cubra com uma lamínula e examine o esfregaço sob microscopia em aumento de 40x.

Lembre-se: A fossa navicular é uma porção da uretra anterior, distante cerca de 2 cm do meato uretral externo. Devido a sua anatomia, concentra microorganismos viáveis para pesquisa sem a contaminação de agentes externos ou da ação de enzimas contidas na secreção.

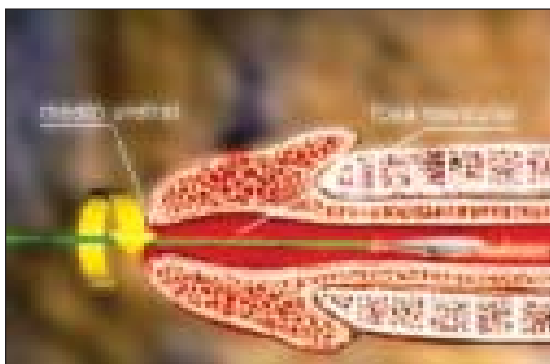


Figura 1. Uretra anterior, fossa navicular e meato uretral externo.



Qual é o procedimento na coleta da secreção uretral masculina para o diagnóstico do gonococo?

1. Solicite ao paciente para retrair o prepúcio;
2. Limpe a secreção emergente com gaze estéril;
3. Introduza o swab alginatado ou com carvão cerca de 2 centímetros no canal uretral, atravessando a fossa navicular;
4. Gire o swab delicadamente de 8 a 10 vezes para absorver a secreção;
5. Retire o swab, faça um esfregaço fino e homogêneo ou inocule a amostra em meio de cultura apropriado.

Qual é o procedimento de coleta da secreção uretral masculina para o diagnóstico da clamídia?

1. Solicite ao paciente para retrair o prepúcio;
2. Limpe a secreção emergente com gaze estéril;
3. Introduza o swab, com haste de alumínio, cerca de 4 centímetros no canal uretral;
4. Gire delicadamente de 8 a 10 vezes para obter o maior número de células epiteliais possíveis. Lembre-se que a *Chlamydia trachomatis* é uma bactéria intracelular e o seu diagnóstico laboratorial depende do número de células contidas na amostra. São necessárias pelo menos 50 células epiteliais;
5. Faça um esfregaço fino e homogêneo ou coloque o swab em meio de conservação para ELISA.

Atenção:

A coleta de amostra de secreção uretral para o diagnóstico laboratorial do gonococo e da clamídia deve ser feita de preferência pela manhã, antes do paciente urinar. Caso isso não seja possível, espere pelo menos três horas após a última micção.

Assegure-se de que o paciente não esteja sob o efeito de tratamento com antibiótico. A coleta só deverá ser realizada 7 dias após o término do tratamento.

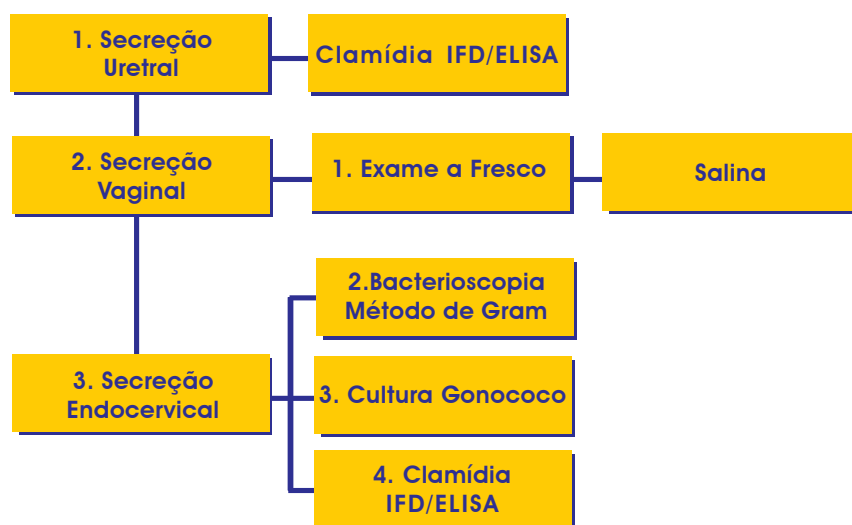
Jamais colete a secreção emergente, pois a ação das enzimas presentes inativam ou destroem os microorganismos, impedindo sua observação ou cultivo.



Qual a seqüência para coleta de amostras na mulher?

Para definição da seqüência, tomamos como exemplo uma paciente que teve solicitação de exames para a pesquisa dos principais agentes etiológicos causadores das DST.

Observe a seqüência:



Essa seqüência deve ser adaptada segundo a solicitação do médico, desconsiderando as etapas que incluem exames que não foram solicitados.

Caso o swab utilizado na coleta da amostra para cultura de gonococo seja tratado com carvão, colha primeiro a amostra para os testes de clamídia.



Qual o procedimento de coleta da secreção uretral feminina para o diagnóstico da clamídia?

1. Faça a expressão da secreção das glândulas parauretrais pressionando a parede vaginal com o dedo médio;
2. Introduza o swab cerca de 2 centímetros na uretra;
3. Colete a secreção girando delicadamente o swab de 8 a 10 vezes.

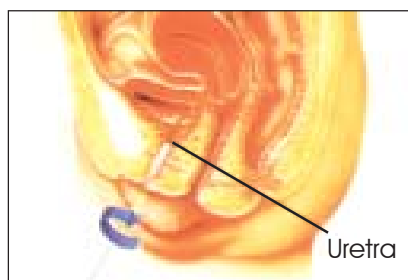


Figura 3: Coleta de secreção uretral feminina.

Atenção: Faça a coleta após três horas da última micção.

Como fazer a coleta da secreção vaginal para o exame a fresco?

Em mulheres, a secreção do fundo do saco vaginal pode ser utilizada para o exame a fresco. Este exame permite a pesquisa de *Candida sp*, *Trichomonas sp* e *Gardnerella vaginalis*.

1. Coloque uma gota de salina sobre uma lâmina limpa, previamente identificada;
2. Introduza o espéculo;
3. Colete a amostra do saco vaginal com o auxílio de um swab;
4. Retire o swab, coloque a secreção sobre a salina na lâmina e homogeneize;
5. Cubra com lamínula e examine imediatamente o esfregaço sob microscopia em aumento de 40x.

Em crianças e em mulheres histerectomizadas, a secreção do fundo do saco vaginal é utilizada para exame a fresco, cultura de gonococo e diagnóstico da clamídia.



Qual o procedimento de coleta da secreção endocervical para o diagnóstico do gonococo?

1. Introduza o espéculo;
2. Limpe com gaze estéril a secreção do fundo do saco vaginal e a que recobre o colo do útero;
3. Introduza o swab alginatado ou com carvão cerca de 1 centímetro no canal endocervical, girando-o delicadamente de 8 a 10 vezes, para absorver a secreção. Cuidado para não tocar as paredes vaginais;
4. Retire o swab, sem tocar as paredes vaginais.

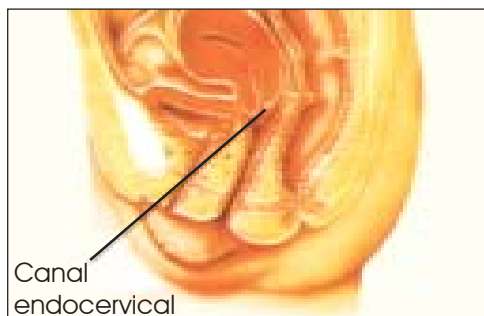


Figura 4: Localização do canal endocervical.



Figura 5: Coleta de secreção endocervical.

Assegure-se de que a paciente não esteja sob o efeito de tratamento com antibiótico. Neste caso, a coleta só deverá ser realizada 7 dias após o término do tratamento.

Não utilize espéculo lubrificado. O lubrificante atua sobre o gonococo, inativando-o. Se for necessário, utilize água morna para facilitar a introdução do espéculo.

Jamais utilize alça bacteriológica para fazer a coleta, por causa do risco de traumatismo na endocérvice.

Inocule a amostra em meio de Thayer-Martin ou em meio de transporte de Amies, imediatamente após a coleta.

Bacterioscopia pela coloração de Gram não deve ser utilizada para o diagnóstico de infecção gonocócica na mulher. Sua utilidade reserva-se ao diagnóstico de outros agentes, pois essa técnica apresenta sensibilidade inferior a 60% na mulher.



Qual o procedimento de coleta da amostra endocervical para o diagnóstico da clamídia na mulher?

É o mesmo procedimento descrito na resposta anterior. Observe apenas o tipo de swab disponível. Se você utilizar swab com carvão para a coleta da amostra destinada à cultura de gonococo, colha a amostra para a clamídia primeiro. Lembre-se que a sensibilidade do diagnóstico laboratorial da clamídia aumenta quando se colhe amostra uretral e endocervical.

Após a coleta, faça um esfregaço fino e homogêneo para o teste IFD ou coloque o swab em meio de conservação para ELISA.



Qual o procedimento de coleta da secreção anal para cultura do gonococo?

1. Introduza o swab alginatado ou com carvão no reto, cerca de 2 centímetros;
2. faça movimentos circulares junto à parede retal raspando o material das criptas por 30 segundos, para absorver a secreção;
3. repita o procedimento com novo swab, caso o swab toque as fezes.

Quais os procedimentos de coleta da secreção ocular para cultura do gonococo e diagnóstico da clamídia?

1. Limpe a secreção externa ao olho com gaze estéril;
2. Afaste a pálpebra e limpe a secreção acumulada nos cantos do olho;
3. Colete material dentro da conjuntiva ocular, com auxílio do swab.

Jamais colete secreção acumulada no canto do olho.



Figura 1: Coleta de secreção anal.

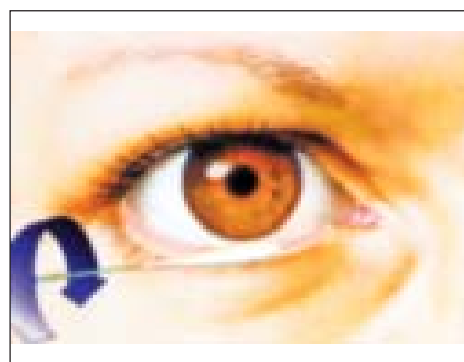


Figura 2: Coleta de secreção ocular.



Como preparar e identificar as lâminas para bacterioscopia?

1. Identifique corretamente as lâminas;
2. Prepare sempre duas lâminas para cada teste, sendo uma de reserva para o caso de acidente ou resultado insatisfatório da coloração.

Utilize lâminas limpas e desengorduradas. Sempre que possível, utilize lâminas novas.

Como preparar esfregaços com qualidade?

Você pode fazer um esfregaço fino e homogêneo do seguinte modo:

1. Gire o swab delicadamente sobre a superfície central da lâmina. Obedeça as margens da lâmina.
2. Deixe o esfregaço secar em temperatura ambiente.

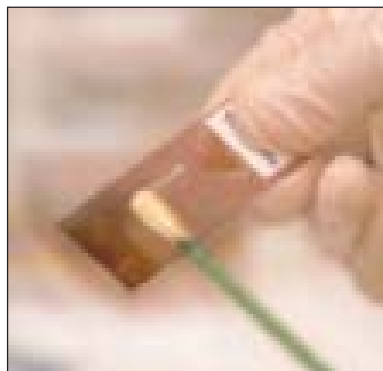


Figura 1: Preparação de esfregaço para coloração de Gram

Não esfregue o swab sobre a lâmina, pois isto destrói as estruturas celulares impedindo a diferenciação das estruturas celulares e bacterianas.



Como fixar o esfregaço para coloração de Gram?

No método de Gram modificado, recomendado pelo PN-DST/AIDS, o cristal de violeta utilizado já contém fixador. Para conhecer melhor esse método, consulte o curso TÉCNICA DE COLORAÇÃO DE GRAM da Série TELELAB.

Jamais fixe o esfregaço em chama. Tal procedimento destrói as estruturas celulares, devido a rápida desidratação da amostra.

Como preparar a amostra para o teste de Imunofluorescência Direta – IFD para clamídia?

1. Identifique uma lâmina própria para IFD;
2. Prepare um esfregaço fino e homogêneo;
3. Deixe secar em temperatura ambiente;
4. Fixe, pingando sobre o esfregaço, 3 a 4 gotas de metanol;
5. Deixe evaporar em temperatura ambiente;
6. Embale em papel alumínio;
7. Identifique externamente a amostra.



Figura 2: Procedimento de embalagem da lâmina

Essa amostra pode ser conservada em geladeira por até 72 horas antes do envio para o laboratório, ou pode ser congelada a -20°C por 6 meses.



Como semear e armazenar a amostra para cultura de Neisseria gonorrhoeae utilizando o meio de Amies?

1. Assegure-se de que o meio está em condições de uso e à temperatura ambiente, antes do uso;
2. Introduza o swab completamente no meio;
3. Feche bem a tampa do tubo;
4. Deixe em temperatura ambiente até o envio para o laboratório.

O meio de **Amies**, utilizado para transportar amostras para cultura de *Neisseria gonorrhoeae*, é uma mistura de sais balanceados e carvão, que preservam o gonococo viável por 8 horas, no máximo. A semeadura em meio de Thayer-Martin modificado deve ocorrer dentro deste período.



Figura 1: Semeadura no meio de Amies



Como semear e incubar amostras para cultura de Neisseria gonorrhoeae em meio de Thayer-Martin modificado?

1. Assegure-se de que o meio está em condições adequadas de uso e à temperatura ambiente;
2. Faça no meio uma estria em forma de "Z", gire o swab delicadamente sobre o meio até completar a estria;
3. Reestrie no sentido inverso do "Z" com uma alça bacteriológica estéril e resfriada;
4. Coloque as placas em posição de cultura (com o meio para baixo), dentro de uma lata;
5. Coloque, no fundo da lata, um chumaço grande de algodão embebido em muita água para garantir a umidade;
6. Utilize o sistema da vela ou do comprimido efervescente para obter uma atmosfera entre 3 e 7% de CO₂;
7. Feche hermeticamente a lata, vedando-a com fita crepe ou esparadrapo;
8. Incube em estufa a 35°C entre 24 e 48 horas e envie para o laboratório.

Figura 2 e 3: Semeadura em meio de Thayer-Martin.

Thayer-Martin modificado é o meio de cultura específico para o crescimento e isolamento da *Neisseria gonorrhoeae*. Compõe-se principalmente de um meio base para a gonococo, acrescido de hemoglobina, suplementos vitamínicos e solução de antibióticos para impedir o crescimento de contaminantes.



Como criar uma atmosfera de CO₂ utilizando o método da vela?

1. Prenda uma vela na parede interna da lata onde foi colocado o meio. Você também pode prender a vela sobre a tampa de uma placa de Petri e colocá-la dentro da lata com o meio;
2. Acenda a vela;
3. Tampe bem a lata e vede-a com fita adesiva ou esparadrapo.

Como criar uma atmosfera de CO₂ utilizando o método do comprimido efervescente?

1. Embeba um algodão em água e coloque-o sobre a tampa de uma placa de Petri;
2. Coloque sobre o algodão um comprimido efervescente;
3. Coloque a tampa da placa com o algodão e o comprimido dentro da lata que contém o meio;
4. Tampe bem a lata e vede-a com fita adesiva ou esparadrapo.

Como semear as amostras para isolar outros agentes infecciosos em uretrites, vaginites e cervicites?

A *Neisseria gonorrhoeae*, a *Chlamydia trachomatis*, o *Trichomonas vaginalis*, a *Candida sp* e a *Gardnerella vaginalis* são responsáveis por mais de 95% das uretrites, vaginites e cervicites.

Após a exclusão desses agentes como causadores do quadro infeccioso diagnosticado, a cultura de outras bactérias pode ser útil.

Vários meios de cultura podem ser utilizados, incluindo o meio de tioglicolato, ágar-sangue e o Ágar-mc-Conkey.

Para a semeadura em meio de tioglicolato, proceda da seguinte forma:

1. Introduza o swab no tubo, agitando-o vigorosamente no meio de cultura;
2. Retire cuidadosamente o swab, pressionando-o contra as paredes do tubo para tirar o excesso do líquido.

Nos meios sólidos de ágar-sangue e Ágar-mc-Conkey, proceda como na semeadura no meio de Thayer-Martin modificado.



No caso de uretrites, vaginites e cervicites não gonocócicas, que meio de transporte utilizar?

Utilize o meio de Stuart.

1. Introduza o swab com a amostra completamente no meio;
2. Deixe em temperatura ambiente até o envio ao laboratório.

O meio de **Stuart** é utilizado para transportar amostras para cultura de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos, mantendo as bactérias viáveis por 24 horas (tempo de segurança) até serem semeadas em meio específico para crescimento.

Como conservar as placas de Thayer-Martin nos serviços de DST/aids?

As placas de Thayer-Martin devem ser guardadas em sacos plásticos bem vedados e conservadas sob refrigeração. Devem ser utilizadas, em média, até 10 dias após o seu preparo. Depois desse período, a atividade dos antibióticos começa a diminuir. Além disso, o meio sofre um processo de desidratação, tornando-se inadequado para uso.

Como conservar os meios de Amies e Stuart nos serviços de DST/aids?

Esses meios devem ser conservados no refrigerador no máximo por 1 mês após a sua preparação. Caso os meios tenham sido adquiridos já prontos, siga as instruções do fabricante.



As amostras para exame a fresco podem ser transportadas?

O exame a fresco deve ser realizado imediatamente no próprio local de coleta porque o transporte e a demora alteram a sensibilidade deste método.

Como transportar as amostras para exame bacterioscópico pela técnica de Gram?

As lâminas para bacterioscopia pela técnica de Gram devem ser transportadas em temperatura ambiente.

Certifique-se de que as duas lâminas estão corretamente identificadas e embaladas em papel alumínio.

Como transportar as amostras para testes de Clamídia?

As lâminas de IFD para clamídia e os tubos para teste de ELISA devem ser transportados devidamente identificados e embalados, em caixa térmica com gelo.

Como transportar o material colhido para cultura da Neisseria gonorrhoeae?

As amostras conservadas em meio de transporte de Amies devem ser transportadas devidamente identificadas, em caixa térmica, à temperatura ambiente, também devidamente identificadas.

As placas de Thayer-Martin devem ser enviadas ao laboratório dentro de lata vedada, com tensão de CO₂ e umidade, após 24 a 48 horas de incubação, ou seja, após o crescimento primário da cultura.

Atenção: Jamais refrigere a amostra para a cultura de gonococos, pois eles são inativados sob baixas temperaturas.



Para cuidar de sua segurança, da segurança de seus colegas de trabalho e do meio ambiente, obedeça aos procedimentos básicos de biossegurança em laboratórios:

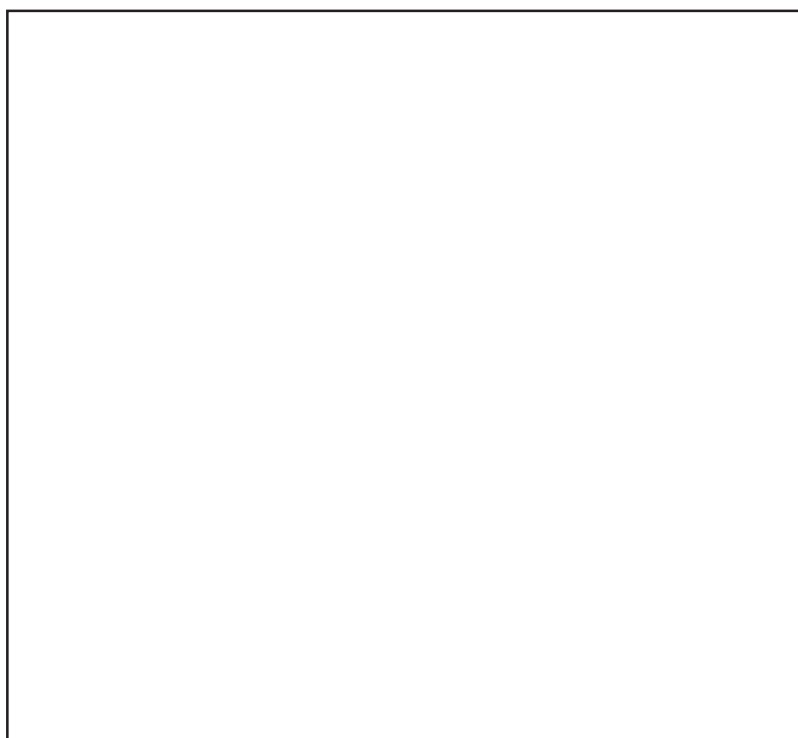


Figura 1. Símbolo de risco biológico



Todo cuidado é pouco na manipulação de materiais biológicos, tais como soro, sangue ou secreções, fluidos orgânicos, tecidos etc. Redobre suas precauções, pois esses materiais são potencialmente infectantes e muitas vezes estão contaminados com agentes etiológicos diferentes do que se está pesquisando, ou ainda desconhecidos. Nunca pipete com a boca e jamais cheire placas de cultura.

A inativação do soro em banho-maria a 56°C por 30 minutos não elimina o potencial infectante da amostra.

Lembre-se de que, com a automação, aumentou muito o número de amostras processadas em laboratório e, conseqüentemente, aumentou também o risco de contaminação. Como você sabe, é difícil afirmar que um profissional se contaminou, de fato, em serviço. Isso faz com que as doenças infecto-contagiosas causadas por acidentes de trabalho não sejam devidamente notificadas; em conseqüência, as medidas de segurança envolvendo o biorrisco acabam não sendo implementadas.



Use sempre Equipamento de Proteção Individual (EPI): avental ou jaleco longo de mangas compridas e punho retrátil, luvas descartáveis, óculos de proteção, pipetadores manuais ou automáticos e, quando for o caso, protetor facial.

Os EPI são regulamentados pelo Ministério do Trabalho e seu uso visa a minimizar a exposição do técnico aos riscos e evitar possíveis acidentes nos laboratórios. Note que, às vezes, os profissionais de laboratório precisam de um tempo para se adaptar ao uso dos equipamentos na sua rotina. O importante é que você se adapte e incorpore a utilização dos EPI à sua prática profissional. O uso indevido dos EPI, ao invés de proteger, poderá ocasionar acidentes.

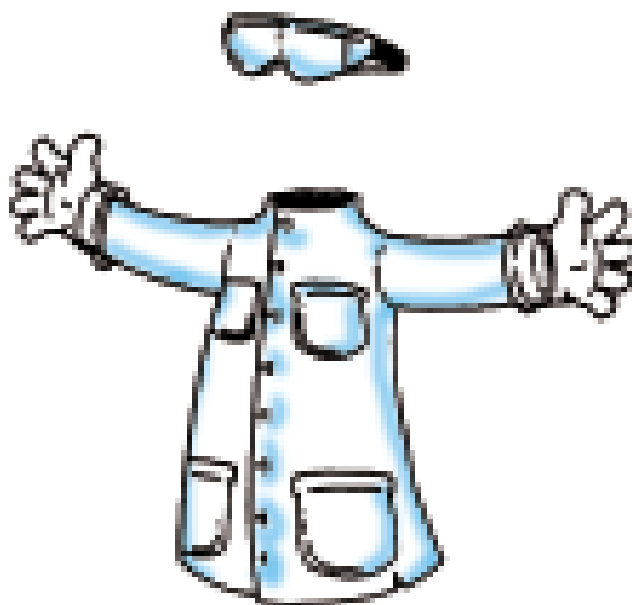


Figura 2. Ilustração dos principais Equipamentos de Proteção Individual (EPI)



Evite a formação e dispersão de aerossóis.

Aerossóis são micropartículas sólidas e líquidas com dimensões aproximadas entre 0,1 e 50 micra que podem, caso contenham microorganismos, permanecer em suspensão e plenamente viáveis por várias horas.

A pipetagem, flambagem de alças, abertura de frascos e ampolas, manipulação de seringas, agulhas, lancetas, lâminas e outros assemelhados podem gerar e propagar aerossóis.

Abertura de frascos, ampolas, tubos e garrafas de cultura requer cuidados especiais. Envolve a parte a ser aberta com um pedaço de gaze. Utilize um pedaço de gaze para cada material, prevenindo assim a contaminação cruzada. Descarte-a imediatamente em hipoclorito de sódio a 2 %.

Centrífugas, agitadores e maceradores, quando manipulados sem as precauções e abertos antes da total parada ou término da operação, igualmente podem contaminar o ambiente laboratorial.



Jamais reencepe agulhas. Esse procedimento é uma das principais causas da contaminação de profissionais de saúde por microorganismos, existentes no sangue e em outros fluidos orgânicos, como por exemplo, o vírus da hepatite B e o HIV. Após a coleta, você deve descartar esse material diretamente em recipiente de paredes rígidas com tampa, contendo hipoclorito de sódio a 2 % em volume superior a metade do recipiente.

Lembre-se: Cada mililitro de sangue contaminado com o vírus da hepatite B contém 100.000.000 de partículas virais, que podem permanecer viáveis por até uma semana. Basta uma dessas partículas para contaminar a pessoa.



Figura 3. Ilustração do descarte de agulha em recipiente apropriado



Reduza ao máximo o manuseio de resíduos, em especial os perfurocortantes. Descarte o rejeito perfurocortante diretamente em recipiente de paredes rígidas, contendo hipoclorito de sódio a 2 %. Deixe em imersão total no mínimo por 24 horas e, em seguida, faça a autoclavação desse material.

Esta é uma regra básica para diminuir os riscos de acidente nos laboratórios. É fundamental que os materiais perfurocortantes sejam autoclavados depois da imersão em hipoclorito de sódio a 2%. Só então esses materiais devem ser encaminhados ao lixo hospitalar. O acondicionamento dos resíduos de laboratório deve seguir a Norma Brasileira (NBR) 9190 da Associação Brasileira de Normas Técnicas- ABNT, que recomenda sacos brancos leitosos para os resíduos potencialmente infectantes e hospitalares e escuros para o lixo comum.

Os profissionais responsáveis pela limpeza e conservação devem ser bem orientados e usar equipamentos de proteção. Todos os recipientes para descarte devem estar identificados.

Lembre-se de que, pela legislação brasileira, quem gera o resíduo é o responsável pela sua eliminação e controle.

No caso dos materiais reutilizáveis, como vidraria e utensílios, deposite-os em recipiente contendo o desinfetante próprio, pelo tempo de contato recomendado e, em seguida, faça a autoclavação. Depois, lave normalmente esses materiais e guarde-os para uso posterior.



Identifique e sinalize os principais riscos presentes em seu laboratório. Produtos e áreas que oferecem risco devem ser marcados com os devidos símbolos internacionais em etiquetas auto-adesivas padrão.

Veja, a seguir, os principais símbolos associados aos riscos em laboratórios.

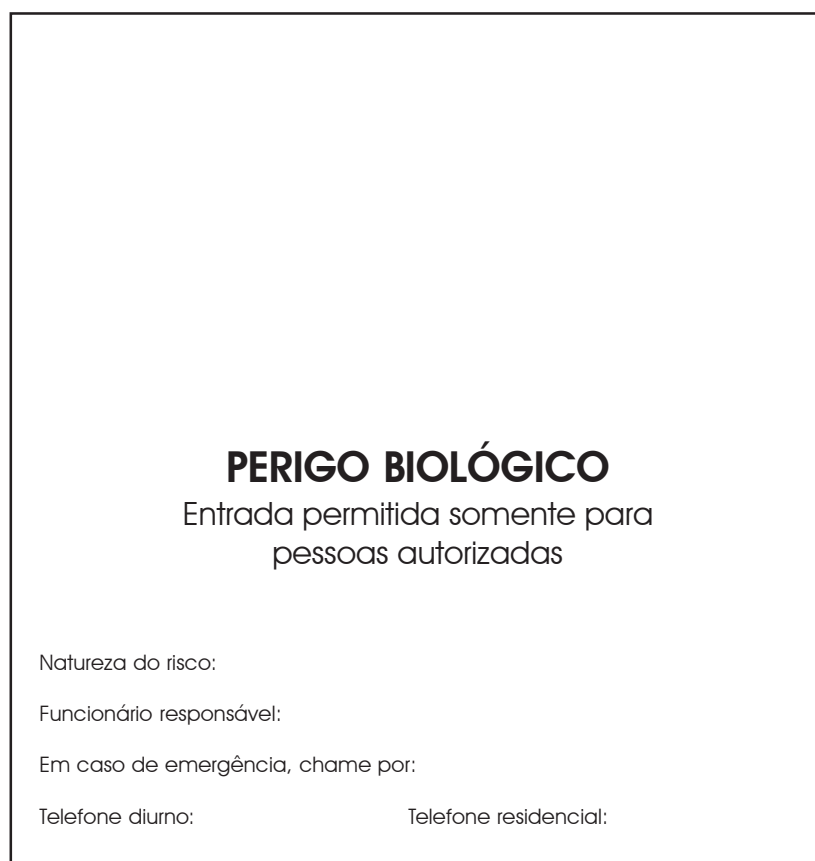


Figura 4. Símbolo de risco biológico para entrada de laboratório.



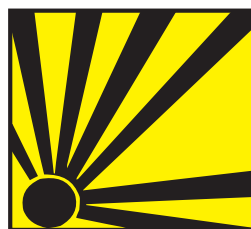
Risco Biológico



Tóxico



Risco Radioativo



Explosivo



Inflamável



Corrosivo



Irritante



Comburente

Figura 5. Principais símbolos internacionais associados aos riscos em laboratórios.



Verifique sempre as condições de funcionamento dos equipamentos de Proteção Coletiva (EPC): extintores de incêndio, chuveiros de segurança, lava-olhos, pia para lavagem de mãos, caixa de areia e cabine de segurança biológica.

Existem três tipos de cabines de segurança biológica disponíveis no mercado: as de classe I, classe II e classe III. São recomendadas para o uso em laboratórios clínicos as de classe II. Veja a figura , na página seguinte.

Procedimentos que devem ser observados na cabine de segurança biológica:

- ♦ Descontamine a superfície interior, antes e depois do uso, com gaze estéril embebida em desinfetante adequado;
- ♦ Ligue a cabine e a luz ultravioleta 20 minutos antes e deixe tudo ligado pelo mesmo tempo ao final de sua utilização;
- ♦ Use avental de mangas longas, luvas descartáveis e máscara;
- ♦ Não efetue movimentos rápidos ou bruscos dentro da cabine e evite operações que causem turbulência;
- ♦ Não use bico de Bunsen, pois pode acarretar danos ao filtro HEPA e causar desequilíbrio do fluxo de ar. Se necessário, use incinerador elétrico ou microqueimador automático ; e
- ♦ Mantenha as grelhas anteriores e posteriores da cabine desobstruídas. A cabine não é um depósito. Evite guardar equipamentos ou quaisquer outros objetos no seu interior.



CLASSE I

CLASSE II

CLASSE III

Figura 6. Ilustração das cabines de segurança biológica - classes I, II e III.

As cabines de classe I e II são consideradas como barreira de proteção parcial e a de classe III é uma barreira de proteção total.



Para descontaminação pessoal, de equipamentos e superfícies fixas, utilize desinfetantes eficientes e adequados. Use sempre produtos registrados no Ministério da Saúde.

Não existe um desinfetante único que atenda a todas as necessidades. É fundamental conhecer os diversos agentes químicos e sua compatibilidade de uso para evitar custos excessivos e utilização inadequada.

Para a descontaminação de amostras biológicas na rotina dos laboratórios clínicos, recomendamos os compostos liberadores de cloro. O mais comumente utilizado é o hipoclorito de sódio a 2%. Sua forma mais ativa é o ácido hipocloroso (HOCl), que é formado em soluções com pH entre 5 e 8. A eficácia do cloro decresce com o aumento do pH e vice-versa. Cabe lembrar que a atividade desse ácido é diminuída na presença de matéria orgânica, fato que deve ser considerado quando aplicado em superfícies contendo sangue e outros líquidos corpóreos. Os hipocloritos têm sua estabilidade dependente de fatores como concentração, temperatura, pH, luz, metais e prazo de validade.

Os hipocloritos são corrosivos para metais. Objetos de prata, alumínio e até mesmo de aço inoxidável são atingidos, quando imersos em soluções rotineiramente utilizadas em laboratório. O hipoclorito de sódio é tóxico e causa irritação na pele e olhos. Se ingerido, provoca corrosão das membranas e mucosas e sua inalação causa irritação severa no trato respiratório. Jamais misture os hipocloritos com outras substâncias químicas, tais como desinfetante, álcool, soluções germicidas etc.

Após o tratamento por 24 horas com hipoclorito de sódio a 2%, os materiais devem ser autoclavados. A autoclavação é recomendada tendo em vista a possibilidade de o hipoclorito não atingir as partes do material a ser esterilizado. Caso isso não seja possível, a alternativa é o método de fervura por período não inferior a 30 minutos.



Observe, na tabela abaixo, a indicação de alguns agentes químicos e seu espectro de ação antimicrobiana.

Eficiência antimicrobiana de alguns agentes químicos desinfetantes frente a agentes microbianos.

	Bactérias	Vírus lipofílicos	Vírus hidrofílicos	Microbactérias	Fungos	Esporos bacterianos
Etanol	+	+	-	+	√	-
Formaldeído	+	+	+	+	+	+
Glutaraldeído	+	+	+	+	+	+
Comp. Cloro	+	+	+	+	+	+
Fenóis	+	+	-	+	+	-
Quaternários de amônia	+	+	+	-	+	-
Iodóforos	+	+	+	-	+	-

(+) Atividade

(-) Ausência de atividade

(V) Variável de acordo com o microorganismo



Tenha muito cuidado com a manipulação e estocagem de substâncias químicas. Leia com atenção as informações contidas nos rótulos.

A estocagem de matéria-prima deve ser feita em armários apropriados, bem ventilados, ao abrigo da luz solar e calor. É importante observar a incompatibilidade entre as diferentes substâncias.

Sempre que recomendado pelo fabricante, os agentes químicos devem ser manipulados em capelas de exaustão química devidamente instaladas. Atenção: Não confunda capela de exaustão química com cabine de segurança biológica.

Veja a seguir os riscos relacionados a cada categoria química:

Categoria química e riscos relacionados

GRUPO QUÍMICO	RISCO
Ácidos	Corrosão
Bases	Corrosão
Cianetos e Sulfetos	Envenenamento
Líquidos inflamáveis	Incêndio
Sólido Inflamável	Incêndio



Seja sempre consciente da importância de suas ações na preservação da biossegurança em seu local de trabalho:

- ♦ Lave as mãos antes e depois de qualquer procedimento laboratorial;
- ♦ Nunca pipete com a boca;
- ♦ Jamais cheire placas de cultura;
- ♦ Dentro do laboratório, não fume, não coma, não beba, não prepare refeições;
- ♦ Quando estiver usando luvas, não manuseie objetos de uso comum, como telefones, maçanetas de portas e janelas, jornais, revistas etc;
- ♦ Não guarde alimentos ou bebidas em geladeiras e congeladores para armazenagem de material biológico; e
- ♦ Vacine-se rotineiramente contra a hepatite B.

Seguindo essas recomendações, você vai estar contribuindo para a diminuição de acidentes.

Se acontecer um acidente de trabalho em seu laboratório, notifique imediatamente a sua chefia.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitas das atividades aqui descritas para identificação, coleta, semeadura, cultura, armazenamento e transporte de amostras de secreção para testes laboratoriais já fazem parte do seu cotidiano. Faça uma reflexão sobre o que acabou de ler e verifique o que pode ser mantido, modificado e incorporado a seu trabalho e ao seu laboratório para que a sua prática profissional se desenvolva de acordo com os procedimentos técnicos e cuidados de biossegurança recomendados pelo **Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids**, do Ministério da Saúde. As questões colocadas a seguir facilitarão essa reflexão.

Utilize esse manual, junto com o vídeo, como fonte permanente de consulta. Mantenha este manual sempre ao seu alcance e faça dele um instrumento a mais de trabalho.

Você tem comunicação direta com o Telelab pelo número:

TELEFAX GRATUITO - 0800 61 2436



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COSTA, M.F., *Segurança Química em Biotecnologia e Ambientes Hospitalares*, Editora Santos, São Paulo, 99p., 1996
- CRIST, N.R., *Manual de Biossegurança para Laboratório, Biossegurança para os Trabalhadores de Saúde*, 1994.
- CURA, E. & WENDEL, S. *Manual de Procedimentos de Controle de Calidad para los Laboratorios de Serologia de los bancos de Sangre*, Organización de la Salud (OPS), Washington, DC, 61 p.
- Diretoria de Vigilância e Pesquisa do Paraná/Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública do Paraná, *Manual de coleta de Amostras Biológicas*, 1ª edição, Curitiba, 1996.
- Diretoria de vigilância e Pesquisa do Paraná/Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública do Paraná, *Manual de Biossegurança*, Curitiba, 1996.
- FLEMING, D.O. AT AT., *Laboratory Safety: Principles and Practices*, 2ª ed., American Society for Microbiology, Washington, DC, 406 p., 1995.
- FRANCHINI, M., *Procedimentos Laboratoriais no Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis*, Secretaria de Saúde/Instituto de Saúde do Distrito Federal, Brasília, 1983.
- GRISHT, N.R., *Manual de Segurança para Laboratório*, Editora Santos, São Paulo: 133 p., 1995.
- INSENBEB, H.D., *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, American Society for Microbiology, vol. 1, 1992.
- Instituto Adolfo Lutz/Seção de Bacteriologia/Departamento de Epidemiologia/Faculdade de Saúde Pública da USP, *Curso de Microbiologia aplicada ao Diagnóstico de DST/AIDS*, São Paulo 1992.
- Ministério da Saúde, PN-DST/AIDS, *Manual de Procedimentos para Testes Laboratoriais*, Brasília, 1992.
- Ministério da saúde, PN-DST/AIDS/MS, *Manual para Controle de Doenças Sexualmente Transmissíveis*, Brasília, 1993.
- Ministério da Saúde, *Processamento de Artigos e superfícies em Estabelecimento de Saúde*, 2ª edição, Brasília, 49 p., 1994.
- Ministério da Saúde, *Segurança no Ambiente Hospitalar*, Brasília, 196 p., 1995.
- SIMONS, J. & SOTTY, P., *Prévention et Laboratoire de Recherche*, Éditions INSERM/CNRS/INRA/Institute Pasteur, Paris, 248 p., 1991.



SIQUEIRA, L.F. de G. e outros, *Biossegurança em Laboratórios de DST, partes I e II, Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, número 65, vol. 17, 1989.

VALLE, S. & TEIXEIRA, P., *Biossegurança: uma Abordagem Multidisciplinar*, Editora FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 362 p., 1996.

VALLE, S., *Regulamentação da biossegurança em biotecnologia*, Edição Curso de

Biossegurança da FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 80 p.,1996.

Agradecimentos: Nélia Maria Medeiros de Souza da Clínica Mãe e Filha;

Consultor da Maio Propaganda Maurício Rolo Filho;

Centro de Saúde nº 8 de Brasília;

Instituto de Saúde do Distrito Federal.

Agradecimentos especiais aos pacientes que permitiram as filmagens, em demonstração exemplar de cidadania.

Arte-final, Ilustração e projeto gráfico:

Coordenação Nacional de DST e Aids